



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*«Η ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗ ΤΟΥ STRESS ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ
ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΑΙ Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΤΟ
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΑΥΤΗΣ»*

**ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ Ν. ΤΖΑΒΕΛΛΑ
ΜΑΙΑ**

**ΛΑΡΙΣΑ
Σεπτέμβριος 2014**

[1]

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Κ. Νταφόπουλος Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-
Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :

Κ. Νταφόπουλος Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Π. Λιάκος Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Βιοχημίας Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας.

Χ. Ι. Μεσσήνη Λέκτορας Μαιευτικής-Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Θα ήθελα αρχικά να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή κ. Ιωάννη Ε. Μεσσήνη για την ευκαιρία που μου έδωσε να παρακολουθήσω το πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Βιολογία της Αναπαραγωγής», ώστε να επενδύσω με επιστημονική γνώση την 18χρονη επαγγελματική μου εμπειρία ως Μαία Μονάδων Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής. Για τον ίδιο λόγο ευχαριστώ και τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής επιλογής υποψηφίων μεταπτυχιακών φοιτητών, τον καθηγητή Βιολογίας κ. Ν. Βαμβακόπουλο, την καθηγήτρια Γενετικής κ. Α. Τσέζου, τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Κ. Νταφόπουλο και τον λέκτορα Ανατομίας και κλινικό εμβρυολόγο κ. Γ. Σ. Ανυφαντή.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον επιβλέποντα της πτυχιακής μου εργασίας καθηγητή κ. Κ. Νταφόπουλο, για τις συμβουλές και την καθοδήγηση του. Επίσης τον επίκουρο καθηγητή Πυρηνικής Ιατρικής κ. Π. Γεωργούλια, τον ραδιοβιολόγο, Δρ. Δ. Ψημάδα και την τεχνολόγο ιατρικών εργαστηρίων κ. Μαρία Κουρνούτη, για τις μετρήσεις κορτιζόλης στο Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του ΠΓΝΛ.

Για την πολύτιμη βοήθεια τους ευχαριστώ τη μαιευτήρα-γυναικολόγο Δρ. Μαρίνα Δημητράκη, μετεξειδικευμένη στην Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή, τις βιολόγους MSc, Φανή Μπουναρτζή και Χρύσα Κόκκαλη και τις φοιτήτριες βιολογίας Γεωργία Λαγοδόντη και Κατερίνα Κατσανάκη.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ την Προϊσταμένη μαία του Μαιευτηρίου του ΠΓΝΛ κ. Αναστασία Πουρνάρα, για τη βοήθεια της στη διεκπεραίωση των ταυτόχρονων με τις μεταπτυχιακές μου σπουδές, επαγγελματικών μου υποχρεώσεων και την ηθική της συμπαράσταση. Επίσης τη συνεργάτιδά μου στη Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής του ΠΓΝΛ νοσηλεύτρια Κ. Σωτηρία Παππά, για την άψογη συνεργασία και συμπαράσταση της.

Και τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στο σύζυγο μου Γιάννη Μπουρουτζήκα για την ηθική, συναισθηματική και πρακτική του συμπαράσταση στις αυξημένες μου υποχρεώσεις. Καθώς και τα παιδιά μου Ελένη και Φώτη για την αγάπη τους και την υπομονή τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ρόλος του άγχους κατά τη διαδικασία της IVF έχει μελετηθεί αρκετά, όμως πολύ λίγες μελέτες έχουν ασχοληθεί με τους ενδοκρινολογικούς δείκτες άγχους και μετά την εμβρυομεταφορά.

Σχεδιασμός: Πρόκειται για μια προοπτική μελέτη κοορτής, η οποία διεξήχθη στη Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, από τον Απρίλιο έως και τον Ιούλιο 2014.

Σκοπός: Η διερεύνηση της διακύμανσης του άγχους κατά τη διαδικασία της IVF και η σχέση του με το ποσοστό κύησης.

Μέθοδος: Η μέτρηση άγχους 53 ζευγαριών που υποβλήθηκαν σε IVF, χρησιμοποιώντας το ερωτηματολόγιο στάθμισης άγχους STAI Form-Y του Spielberger, που συμπληρώθηκε την ημέρα της εμβρυομεταφοράς και από τα δύο μέλη του ζεύγους και η μέτρηση με RIA της κορτιζόλης (F) σάλιου: προ της θεραπείας (F1), την 8^η ημ. της θεραπείας (F2), την ημ. της ωοληψίας (F3) και +2 (F4), +3 (F5), +4 (F6) και +5 (F7) ημέρες μετά την ωοληψία.

Αποτελέσματα: Τα STAI scores ήταν υψηλά για τις γυναίκες, με θετικά STAI-S (48,9%) και STAI-T (51,1%) και για τους άνδρες, με θετικά STAI-S (53.3%) και STAI-T (48,9%), τα οποία έχουν θετική συσχέτιση, αλλά όχι στατιστικά σημαντική ($p=0.96$ και $p=0.99$ αντίστοιχα). Οι τιμές της F ήταν χαμηλότερες στην ομάδα των εγκύων, με την (F6) να είναι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη ($p=0.039$) και την (F7) να έχει τάση για στατιστικά σημαντική μείωση ($p=0.08$). Υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση όλων των μετρήσεων της F των γυναικών, μεταξύ θετικών-αρνητικών STAI-T ($p<0.05$), εκτός της (F4), ($p=0.22$)

Συμπεράσματα: Η F σάλιου είναι αξιόπιστος δείκτης μέτρησης άγχους. Η αυτοαξιολόγηση του άγχους με STAI Form-Y δεν έχει σχέση με το αποτέλεσμα της IVF. Ενώ η αξιολόγηση άγχους με F σάλιου έχει στατιστικά σημαντική σχέση με το αποτέλεσμα της IVF την ημέρα +4 από την ωοληψία. Χρειάζονται μεγαλύτερες μελέτες για να αξιολογηθεί η σχέση άγχους μετά την εμβρυομεταφορά και του αποτελέσματος της IVF. Πρέπει να ληφθεί υπόψιν η ανάγκη ψυχολογικής παρέμβασης κατά την IVF.

ABSTRACT

Background: The role of stress in the process of IVF has been widely studied, but very few studies have dealt with the endocrine markers of stress also after embryo transfer.

Objective: To evaluate the variation of stress in the process of IVF and its relationship with pregnancy rate.

Design: Prospective cohort study.

Setting: The Assisted Reproduction Unit of the Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital of Larissa.

Patient(s): 53 infertile couples undergoing IVF

Intervention(s): Spielbergers anxiety questionnaires (STAI Form-Y) filled out from both members of the couples on the day of embryo-transfer and women saliva specimens collected on the following days: pretreatment (F1), 8th day of treatment (F2), on oocyte retrieval (F3) and +2 (F4), +3 (F5), +4 (F6) and +5 (F7) days after oocyte retrieval, measured by RIA.

Main Outcome Measure(s): STAI S-T scores, F saliva measures and clinical pregnancy.

Results: The STAI scores were high for women, with positive STAI-S (48,9%) and STAI-T (51.1%) and men, with positive STAI-S (53.3%) and STAI-T (48,9%), which had a positive correlation, but not statistically significant ($p = 0.96$ and $p = 0,99$ respectively). The F values were lower in the group of pregnant women, the (F6) to be significantly lower ($p = 0,039$) and (F7) tending to a statistically significant reduction ($p = 0,08$). Statistically significant reduction was found out of all F measurements of women, between positive and negative STAI-T ($p < 0,05$), except (F4), ($p = 0,22$)

Conclusion(s): F saliva is a reliable measure of anxiety. The self-assessment of anxiety using STAI Form-Y is not related to the outcome of IVF. While the assessment of anxiety with F saliva is significantly correlated with the outcome of IVF on day 4 of the egg retrieval. Larger studies are needed to assess the relationship of anxiety after embryo transfer and the outcome of IVF. It should be under consideration the need for psychological intervention during IVF.

Key Words: Stress, in vitro fertilization, cortisol, saliva, STAI questionnaire.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ACTH	: Adrenocorticotropic hormone
AVP	: Arginine-Vasopressine
CES	: Cumulative Embryo Score
CR	: Cleavage Rate
CRH	: Corticotrophin Releasing Hormone
CRH-R	: Corticotrophin Releasing Hormone –Receptor
ET	: Embryo Transfer
FPI	: Fertility Problem Inventory
FR	: Fertilization Rate
GR	: Glucocorticoid receptor
GRE	: Glucocorticoid response elements
HPA	: Hypothalamic-pituitary-adrenal axis
IL	: Interleukin
IVF	: In Vitro Fertilization
MSEQ	: Mean Score of Embryo Quality
MSET	: Mean Score of Embryo Transfer
NE	: Norepinephrine
OR	: Oocyte Retrieval
STAI	: State-Trait Anxiety Inventory
YYE	: Υποθαλαμο-υποφυσιακο-επινεφριδιακός άξονας

Περιεχόμενα

1. ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ	9_
2. ΑΓΧΟΣ	9
2.1. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ STRESS	9
2.1.1. Ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια	9
2.1.2. CRH (CRF)	10
2.1.3. Κορτιζόλη	12
2.1.4. Stress και ΥΓΕ άξονας	14
2.2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΜΠΛΟΚΗΣ ΤΟΥ STRESS ΣΤΗΝ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ	15
3. ΑΓΧΟΣ – ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ – IVF	19
3.2. Άγχος και αποτέλεσμα της IVF	21
3.3. Ψυχολογικές παρεμβάσεις	22
4. ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ ΣΑΛΙΟΥ	24
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	25
1. ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ	25
1.1. Ανθρωπομετρικά στοιχεία	26
1.2 Κατηγορίες στέρωσης	27
1.3. Πρόκληση πολυωοθυλακιορρηξίας	28
ΜΕΘΟΔΟΙ	30
1. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΓΧΟΥΣ ΜΕ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ STAI-I FORM Υ.	30
2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΑΛΙΟΥ	34
3. ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ, ΔΙΑΙΡΕΣΗ, ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΜΒΡΥΩΝ	36

4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	38
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	38
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	44
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ.....	47
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	48

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

Η υπογονιμότητα είναι η μη επίτευξη κύησης μετά από 1-2 έτη τακτικών σεξουαλικών επαφών του ζευγαριού και παρουσιάζεται στο 1/10 των ζευγαριών παγκοσμίως, με τα ποσοστά να ποικίλουν από περίπου 5% στις αναπτυγμένες χώρες, έως και πάνω από 30% στις χώρες της Υποσαχάριας Αφρικής (Burns, 2007). Σε ευρωπαϊκή επιδημιολογική μελέτη βρέθηκε ότι 9% έως 15% των κυοφορούντων γυναικών είχαν αντιμετωπίσει πρόβλημα υπογονιμότητας και ότι το 55% των υπογόνιμων γυναικών θα ζητήσουν ιατρική συμβουλή (Boivin J.*et al*, 2011). Στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής 1/80-100 γεννήσεις είναι αποτέλεσμα εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF).

2. ΑΓΧΟΣ

Η ένταση (stress) περιγράφεται ως η αντίδραση του οργανισμού σε κάθε περιβαλλοντικό παράγοντα, ο οποίος απειλεί την ομοιόσταση και τελικά την υγεία και τη ζωή. Αγχογόνοι παράγοντες (stressors) μπορεί να είναι: ο φυσικός τραυματισμός, η παρατεταμένη έκθεση στο κρύο ή στη θερμότητα, η παρατεταμένη έντονη άσκηση, η λοίμωξη, η καταπληξία, η υποξία, η έλλειψη ύπνου, ο πόνος, ο φόβος, αλλά και οι συναισθηματικές εντάσεις, όπως η υπογονιμότητα και η προσπάθεια αντιμετώπισής της.

2.1. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΟΥ STRESS

2.1.1. Ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια

Ο άξονας υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (HPA) ενεργοποιείται όταν εισέρχονται σήματα στον παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου από μέρη του κεντρικού νευρικού συστήματος (την αμυγδαλή και το στέλεχος) αποκρινόμενα στα προσαγωγά μηνύματα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, τα οποία δημιουργούνται από κάποιο στρεσογόνο παράγοντα. Ο συνδυασμός αυτός απόκρισης επιφέρει την έκκριση της κορτικοεκλυτίνης

(CRH) και της αργινίνης-βαζοπρεσίνης (AVP) από τον υποθάλαμο (Crousos and Gold, 1992). Η CRH μεταφέρεται από τα αγγεία του πυλαίου συστήματος υποθαλάμου-υπόφυσης στην πρόσθια υπόφυση και διεγείρει με συνεργιστική δράση με την AVP, την έκλυση της κορτικοτροπίνης (ACTH), η οποία μέσω της αιματικής κυκλοφορίας φτάνει στο φλοιό των επινεφριδίων όπου διεγείρει την απελευθέρωση κορτιζόλης. Αυτή η διαδικασία διενεργείται μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα.

2.1.2. CRH (CRF)

Η δράση της CRH εξαρτάται από τους υποδοχείς της, οι οποίοι ανήκουν στην οικογένεια των G υποδοχέων και έχουν βρεθεί σε πολλά εξωυποθαλαμικά σημεία του κεντρικού νευρικού συστήματος, παίζοντας συντονιστικό ρόλο στην απάντηση στο stress (Crousos *et al.*, 1998). Δύο υποδοχείς CRH έχουν βρεθεί στον άνθρωπο οι CRH-R1 και CRH-R2 (Hillhouse and Grammatopoulos, 2006). Ο CRH-R1 είναι ο πιο συχνός υπότυπος, ο οποίος απαντάται στην πρόσθια υπόφυση και σε πολλά σημεία του εγκεφάλου. Επίσης βρίσκονται και σε διάφορους περιφερικούς ιστούς, όπως στο μυελό των επινεφριδίων, στην καρδιά, στον προστάτη, στο έντερο, στο ήπαρ, στους νεφρούς και στους όρχεις. (Tsigos C., 2002)

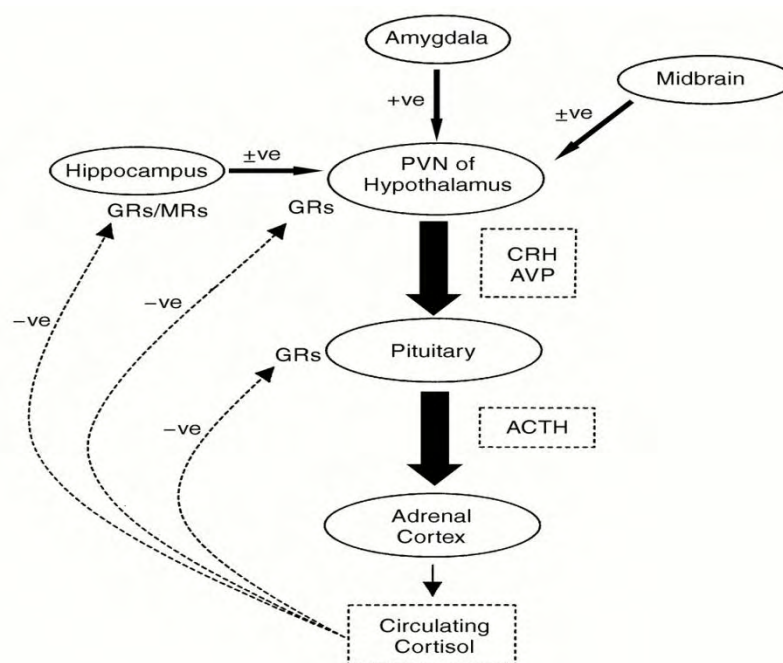
Η βιοδραστικότητα της CRH τροποποιείται και από την CRH δεσμευτική πρωτεΐνη (CRH-BP), η οποία ελέγχει τη βιοδιαθεσιμότητα της CRH.

Ταυτόχρονα με τον ΥΥΕ άξονα, ενεργοποιείται το συμπαθητικό νευρικό σύστημα μετά από διέγερση νευρώνων του εγκεφαλικού στελέχους, με αποτέλεσμα: 1) την αύξηση της αιματικής ροής στα στεφανιαία αγγεία και την αύξηση του καρδιακού ρυθμού, για αύξηση της αιμάτωσης των μυών και του εγκεφάλου, ώστε να αυξηθεί η εγρήγορση, 2) την παράκαμψη του αίματος από τα σπλάχνα προς τους σκελετικούς μυς, μέσω αγγειοσυστολής στα σπλάχνα και αγγειοδιαστολής στους μυς (αντίδραση μάχης ή φυγής στο στρεσογόνο παράγοντα), 3) τον αυξημένο αερισμό των πνευμόνων, ώστε να αυξηθεί η παροχή οξυγόνου στους μυς και τον εγκέφαλο, 4) την επιπέδωση του αμφιβληστροειδή χιτώνα του οφθαλμού, ώστε να αυξηθεί η μακρινή όραση.

Γίνεται μακρόχρονη έρευνα για τη δημιουργία μικρού μοριακού βάρους CRH ανταγωνιστών, που να απορροφούνται από το στόμα και να διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό για τη θεραπεία της κατάθλιψης που οφείλεται σε υπερενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια. Η ανταλαρμίνη, ένας ανταγωνιστής του CRH-R1, συνδέεται με τον υποδοχέα με εξαιρετική συνάφεια, και μειώνει την ενεργοποίηση του άξονα, την ανάπτυξη και έκφραση του αντανεκλαστικού φόβου, και τη νευρογενή φλεγμονή. Η χρόνια χορήγησή του δεν σχετίζεται με δυσλειτουργία των γλυκοκορτικοειδών, ενώ παράλληλα δεν εμποδίζει την απάντηση του οργανισμού σε σοβαρό stress (Tsigos C.*et al.*, 2002).

Η έκκριση των CRH και AVP, άρα και των ACTH και της κορτιζόλης γίνεται κατά ώσεις και ακολουθεί ημερήσια διακύμανση (κίρκαδικό ρυθμό), που ελέγχεται από τον κίρκαδικό βηματοδότη του υπερκίρκασματος πυρήνα. Σε μη στρεσογόνες καταστάσεις η CRH και η AVP εκκρίνονται στο υποφυσιακό πυλαίο σύστημα με συχνότητα περίπου δύο με τρεις ώσεις την ώρα και με το εύρος των ώσεων (amplitude) να αυξάνει τις πρωινές ώρες, μετά τη σίτιση και με την άσκηση και να φτάνει το χαμηλότερο εύρος της αργά τη νύχτα (Sherwood L. *et al.*, 2004), (Goodman H.M. *et al.*, 1998). Για να μειωθεί η διάρκεια έκθεσης των ιστών στα γλυκοκορτικοειδή και η επαγόμενη ανοσοκατασταλτική επίδραση τους, η κορτιζόλη αυξανόμενη πάνω από ένα όριο με αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης αναστέλλει την έκκριση της CRH (long feedback loop) από τον υποθάλαμο και της ACTH από τα κορτικοτρόφα της υπόφυσης (de Kloet R.E. *et al.*, 1991), με αποτέλεσμα να ελέγχεται η περαιτέρω παραγωγή της. Επίσης η ACTH αναστέλλει την έκκριση CRH (short feedback loop) (Εικ.1)

Εικόνα 1. Υποθαλαμο-υποφυσιακό-επινεφριδιακός άξονας



McQUADE R. and YOUNG A. The British Journal of Psychiatry (2000)

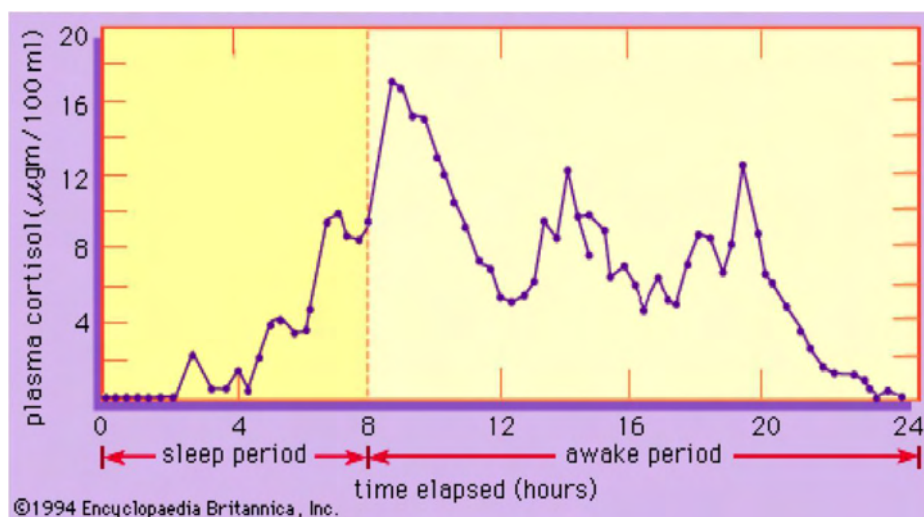
2.1.3. Κορτιζόλη

Η κορτιζόλη είναι ένα γλυκοκορτικοστεροειδές με 21 άτομα άνθρακα, η οποία εκκρινόμενη από το φλοιό των επινεφριδίων μετά από ενεργοποίηση του άξονα HPA, ενεργοποιεί τον μεταβολισμό του οργανισμού προς την κατεύθυνση της προσαρμογής προς το στρεσογόνο παράγοντα. Είναι λιποδιαλυτή και έτσι μπορεί να διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη των περισσότερων κυττάρων.

Η ACTH και η κορτιζόλη εκκρίνονται σε βραχεία επεισόδια ώσεων, πιο πυκνά στις πρωινές ώρες, αλλά συμβαίνουν σε όλη τη διάρκεια της ημέρας, ακόμη και χωρίς την ύπαρξη στρεσογόνων παραγόντων. Σε ανθρώπους με κανονικό νυχτερινό ύπνο και ημερήσια δραστηριότητα, τα επίπεδα κορτιζόλης φθάνουν τη χαμηλότερη συγκέντρωση μεταξύ 10.00 μμ και 04.00 πμ. 30-40 λεπτά μετά την αφύπνιση τα επίπεδα της κορτιζόλης αυξάνουν απότομα. Κατόπιν μειώνονται σταθερά, εκτός από μια μέτρια άνοδο μετά το φαγητό και

παραμένουν χαμηλά έως την έναρξη του νυχτερινού ύπνου, οπότε κατεβαίνουν ακόμη χαμηλότερα. (Linkowski *et al.*, 1985) (Εικ. 2)

Εικόνα 2. Ημερήσιος ρυθμός έκκρισης της κορτιζόλης



Η δράση της στους ιστούς-στόχους διενεργείται μέσω των υποδοχέων της, οι οποίοι είναι κυτταροπλασματικοί και βρίσκονται σε όλους σχεδόν τους ιστούς. Με την πρόσδεση του προσδέτη, οι υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών μεταφέρονται στον πυρήνα του κυττάρου και σαν ομοδιμερή συνδέονται σε ειδικά ανταποκρινόμενα στα γλυκοκορτικοειδή στοιχεία (GRE) του DNA και ενεργοποιούν τη μεταγραφή ειδικών ορμονοεξαρτώμενων γονιδίων (Pratt W.B. *et al.*, 1990), με αποτέλεσμα την απάντηση του οργανισμού στον στρεσογόνο παράγοντα, κυρίως:

1. αυξάνοντας τον καταβολισμό των πρωτεϊνών ώστε να υπάρχουν αμινοξέα για την επούλωση των ιστών σε περίπτωση τραυματισμού,
2. διεγείροντας την πρόσληψη αμινοξέων από το ήπαρ και τη μετατροπή τους σε γλυκόζη (γλυκονεογένεση),
3. διεγείροντας τη γλυκόλυση στο ήπαρ για παραγωγή ενέργειας,

4. αναστέλλοντας την πρόσληψη γλυκόζης από πολλά σωματικά κύτταρα (αντίσταση στην ινσουλίνη) για εξοικονόμηση ενέργειας αλλά όχι από τα εγκεφαλικά κύτταρα για μεγιστοποίηση της εγρήγορσης,
5. διεγείροντας τον καταβολισμό της τρυακυλογλυκερόλης στον λιπώδη ιστό για παραγωγή ενέργειας,
6. αυξάνοντας την αγγειοσυστολή σε συνέργεια με την νορεπινεφρίνη ώστε να εξασφαλισθεί η αντιρρόπηση της υπότασης,
7. αναστέλλοντας τη φλεγμονώδη απόκριση και αναστέλλοντας τη libido, καταστάσεις οι οποίες μετατίθενται για μετά την αντιμετώπιση του στρεσογόνου παράγοντα.

2.1.4. Stress και ΥΥΕ άξονας

Γενικά, η αντίδραση στο stress, με την συνεπαγόμενη ενεργοποίηση του άξονα HPA είναι στιγμιαία ή τουλάχιστον χρονικά περιορισμένη. Έτσι τα αντianaπαραγωγικά, αντιαυξητικά, καταβολικά και ανοσοκατασταλτικά της αποτελέσματα είναι χρήσιμα στον οργανισμό, σε αντίθεση με τη μακρόχρονη ενεργοποίηση του άξονα, που προκαλεί το χρόνιο stress (Selye H.A. *et al.*, 1936)

Κατά το stress το εύρος και ο συγχρονισμός των ώσεων των CRH και AVP στο υποφυσιακό πυλαίο σύστημα αυξάνουν με αποτέλεσμα την αύξηση των εκκριτικών επεισοδίων της ACTH και της κορτιζόλης. Η κακή προσαρμογή στο stress με αποτέλεσμα τη χρονιότητα του και οι διαταραχές λειτουργίας του HPA άξονα, εμπλέκονται σε ποικιλία συνδρόμων και νόσων, περιλαμβανομένων μεταξύ άλλων των καρδιαγγειακών νοσημάτων, της αντίστασης στην ινσουλίνη και στον διαβήτη τύπου 2, του υποθυρεοειδισμού, των συνδρόμων κόπωσης και πόνου αλλά και ψυχιατρικών δυσλειτουργιών, όπως η κατάθλιψη και το μετατραυματικό σύνδρομο (Charmandari E. *et al.*, 2005).

Ενδεικτικό είναι ότι σε ασθενείς που νοσηλεύονται για επεισόδιο κατάθλιψης συχνά παρατηρούνται σημεία δυσλειτουργίας του άξονα HPA,

όπως η υπερκορτιζολαιμία (Klonoff-Cohen H. *et al.*, 2004) και ταυτόχρονης ενεργοποίησης του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, με συμπτώματα όπως η ταχυκαρδία (Lintsen A.M. *et al.*, 2009) ή η ενδο- και εξω-αγγειακή αύξηση της νορεπινεφρίνης (Deuschle M., *et al.*, 1997).

2.2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΜΠΛΟΚΗΣ ΤΟΥ STRESS ΣΤΗΝ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ

Σε φυσιολογικούς (μη διεγερμένους) κύκλους τα υψηλότερα scores άγχους προβλέπουν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά κύησης. Αρκετοί μηχανισμοί συνδέουν το ψυχολογικό stress με την υπογονιμότητα. Το stress, όπως προαναφέρθηκε, ενεργοποιεί τον υποθαλαμο-υποφυσιο-επινεφριδιακό άξονα, ο οποίος αυξάνει την έκκριση της κορτικοεκλυτίνης (CRH) από τον υποθάλαμο, της αδενοκορτικοτρόπου (ACTH) από την υπόφυση και των γλυκοκορτικοειδών από τα επινεφρίδια. Τα αυξημένα επίπεδα των παραπάνω ορμονών μπορεί να επηρεάσουν την χρονική στιγμή της ωορρηξίας, να βραχύνουν την ωχρινική φάση και τελικά να μειώσουν την πιθανότητα εμφύτευσης (Nakamura K. *et al.*, 2008).

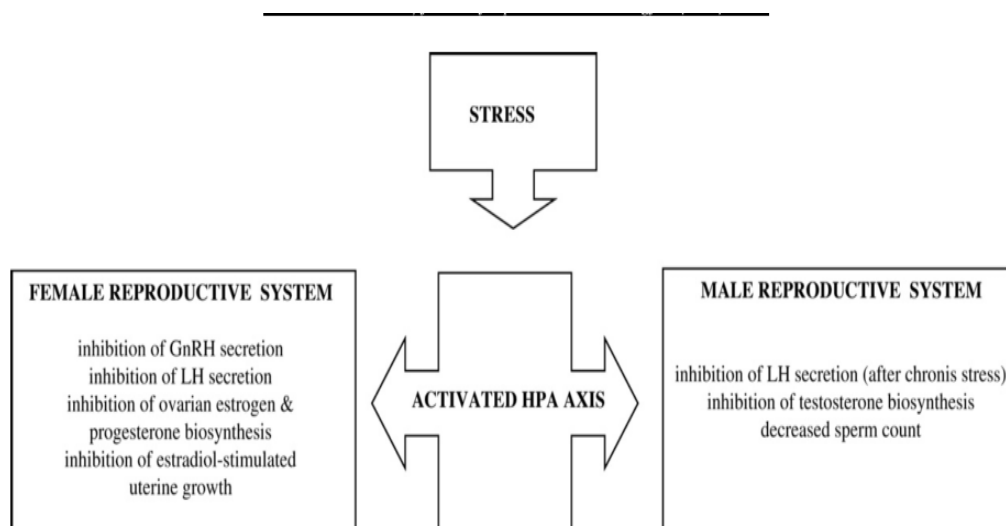
Ακόμη το stress οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίες εμπλέκονται σε αρκετές επιπλοκές της κύησης, περιλαμβανομένων της πρόωρης ρήξης των εμβρυικών υμένων και της προεκλαμψίας (Coussons-Read M.E., *et al.*, 2007) Επίσης δημιουργεί ή επιτείνει συνήθειες που δεν βοηθούν τη γονιμότητα, όπως το κάπνισμα, η χρήση αλκοόλ, αλλά συχνά μειώνει και τη διάθεση του ζευγαριού για σεξουαλικές επαφές (Anderheim L. *et al.*, 2005). Είναι λοιπόν εύλογο να υποθέσουμε ότι οι παραπάνω μηχανισμοί θα έχουν την ίδια επιρροή και στο αποτέλεσμα της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.

2.2.1. CRH και αναπαραγωγή

Η CRH και οι υποδοχείς της έχουν αναγνωριστεί στο ανδρικό και γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα. Έτσι η «αναπαραγωγική» CRH είναι μια μορφή της «ιστικής» CRH που βρίσκεται σε περιφερικούς ιστούς. Συμμετέχει σε διάφορες αναπαραγωγικές λειτουργίες που περιλαμβάνουν και στοιχεία φλεγμονής, ενεργώντας σαν αυτοκρινής ή και παρακρινής ρυθμιστής. Έτσι η «ωοθηκική» και η «ενδομητρική» CRH μπορεί να συμμετέχουν στη ρύθμιση της στεροειδογένεσης, στις φλεγμονώδεις διαδικασίες της ωοθήκης, όπως η ωορρηξία και η ωχρινοποίηση, και στις ενδομητρικές φλεγμονώδεις διαδικασίες, όπως η φθαρτοποίηση και η εμφύτευση της βλαστοκύστης.

Ο HPA άξονας ενεργοποιημένος από το stress δρα ανασταλτικά στο ανδρικό και γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα (εικ.3)

Εικόνα 3. STRESS ΚΑΙ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ



Kalantaridou N.S. *et al.* (2010), *Journal of Reproductive Immunology*

Η CRH σε συνέργεια με την ωθούμενη από τη CRH παραγόμενη β-ενδορφίνη, αναστέλλουν την έκκριση της GnRH (Chen M.D.,1992) και επιπρόσθετα η κορτιζόλη καταστέλλει τη λειτουργία του άξονα HPA στο

υποθαλαμικό, υποφυσιακό, ωοθηκικό και ενδομητρικό επίπεδο, στερώντας τους ιστούς-στόχους από τα στεροειδή του φύλου.

Σε μελέτη ενδοφλέβιας χορήγησης GnRH με παράλληλη χορήγηση γλυκοκορτικοειδών παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση του επαγόμενου από τη GnRH εύρους του κύματος της LH, αποδεικνύοντας την ανασταλτική επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στα γοναδοτρόφα της υπόφυσης στον άνθρωπο (Sakakura *et al.*, 1975). Ακόμη, τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν την επαγόμενη από την οιστραδιόλη αύξηση της μήτρας, μειώνοντας την έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων στη μήτρα (Rabin D.S.,1990). Αυτές οι επιδράσεις στον άξονα HPA είναι υπεύθυνες για την υποθαλαμική αμηνόρροια λόγω stress που παρατηρείται στην αγχώδη συνδρομή και στην κατάθλιψη, στην ασπία, στη νευρική ανορεξία, στη χρόνια εντατική άσκηση και στον υπογοναδισμό του συνδρόμου Cushing. (Stratakis *et al.*, 1995)

Σε μελέτες που έγιναν σε ποντίκια και πιθήκους και αφορούσαν στο αρσενικό αναπαραγωγικό σύστημα, φάνηκε ότι τα γλυκοκορτικοειδή αναστέλλουν την παραγωγή τεστοστερόνης από τα κύτταρα Leydig. Επίσης φάνηκε ότι η έκθεση πειραματόζων σε χρόνιο stress μειώνει την έκκριση της LH (Orr *et al.*, 1994). Αυτές οι αλλαγές οδηγούν σε μειωμένη libido και ποσοστά γονιμοποίησης. Στον άνθρωπο σε μελέτη των παραμέτρων σπερμοδιαγράμματος μετά από στρεσογόνα γεγονότα, όπως ο θάνατος της συζύγου ή στενού συγγενούς, οδηγούν σε μείωση αυτών. Παρότι αυτό μπορεί να συνέβη λόγω της μείωσης παραγωγής της τεστοστερόνης, παρατηρήθηκαν και απ' ευθείας επιδράσεις του stress στο επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων (Yazawa *et al.*, 1999). Η αύξηση των γλυκοκορτικοειδών επίσης ευθύνεται για τον υπογοναδισμό των ανδρών με σύνδρομο Cushing.

«Ωοθηκική CRH»

Η ωοθηκική CRH ταυτοποιήθηκε πρώτα στα κύτταρα της θήκης, στα ωχρινοποιημένα κύτταρα του στρώματος και στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου (Mastorakos G.,1993). Μελέτες *in vitro* δείχνουν ότι η CRH αναστέλλει την ωοθηκική στεροειδογένεση μέσω της interleukin-1 και με ρυθμό ανάλογο της

δοσολογίας των γλυκοκορτικοειδών (Calogero A.E.,1996), (Ghizzoni L,1997), προτείνοντας ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις CRH στις ωοθήκες γυναικών που εκτέθηκαν σε έντονο ψυχολογικό stress, μπορεί να σχετίζονται με την πρόωρη εμμηνόπαυση που παρουσίασαν (Bromberger A.M.,1997). Επίσης η συγκέντρωση CRH είναι μεγαλύτερη στις προεμμηνοπαυσιακές από ότι στις μετεμμηνοπαυσιακές ωοθήκες , σημαίνοντας ότι ίσως η CRH να έχει σχέση με τη φυσιολογική ωοθηκική λειτουργία κατά την αναπαραγωγική ηλικία (Zoumakis E. *et al.*, 2001).

«Ενδομητρική CRH»

Η ενδομητρική CRH φαίνεται να παίζει θεμελιώδη ρόλο στους μηχανισμούς φθαρτοποίησης του ενδομητρίου, εμφύτευσης της βλαστοκύστης και διατήρησης της κύησης (Gravanis *et al.*, 2001). Τα επιθηλιακά κύτταρα του ενδομητρίου εκφράζουν την CRH καθ' όλη τη διάρκεια του εμμηνορρυσιακού κύκλου, ενώ τα κύτταρα του στρώματος την εκφράζουν μετά την έναρξη της φθαρτοποίησης (Ferrari A. *et al.*, 1995), (Makrigiannakis A. *et al.*, 1995a), (Di Blasio A.M. *et al.*,1997). Οι αδένες του ενδομητρίου είναι γεμάτοι από CRH και στην ωοθυλακική φάση και στην ωχρινική φάση, με τις συγκεντρώσεις της να είναι σημαντικά υψηλότερες στη δεύτερη (Makrigiannakis A. *et al.*, 1995b), (Mastorakos G. *et al.*, 1996). Η ρύθμιση έκφρασης του γονιδίου γίνεται θετικά από την προγεστερόνη και αρνητικά από τα οιστρογόνα και την κορτιζόλη, οπότε υπάρχει μια ένδειξη για τη συμμετοχή της αύξησης της κορτιζόλης, λόγω stress, στην αποτυχία εμφύτευσης.

Νωρίς στην κύηση, τα σημεία εμφύτευσης σε ενδομήτρια ποντικών περιέχουν 3,5 φορές υψηλότερες συγκεντρώσεις CRH, από τα ενδιάμεσα των σημείων εμφύτευσης, τμήματα του ενδομητρίου (Makrigiannakis *et al.*, 1995a). Επίσης η CRH ρυθμίζει την έκφραση της προσταγλανδίνης PGE₂, της ιντερλευκίνης-1 (IL-1) και της ιντερλευκίνης-6 (IL-6), παράγοντες οι οποίοι επιδρούν στη διαδικασία της φθαρτοποίησης. CRH επίσης παράγεται στη διεισδυτική τροφοβλάστη, δηλαδή στην επιφάνεια του εμβρύου όπου πραγματοποιείται η συνύπαρξη εμβρύου-ενδομητρίου με σκοπό την επίτευξη ανοσοανοχής στα πρώτα στάδια της εμφύτευσης. Η CRH επάγει την

έκφραση Fas Ligand (ενός προαποπτωτικού μορίου), τοπικά στα κύτταρα του φθαρτού αλλά και στην διεισδυτική τροφοβλάστη, ώστε να ενεργοποιηθεί η απόπτωση των μητρικών Τ λεμφοκυττάρων, που εκφράζουν Fas στην επιφάνεια τους, δημιουργώντας τοπική ανοσοανοχή. Ρυθμίζει τέλος την έκφραση του CEACAM 1, ενός μορίου προσκόλλησης, που βοηθά στην αρχική προσκόλληση της τροφοβλάστης στο ενδομήτριο. (Makrigiannakis A. *et al.*, 2001).

3. ΑΓΧΟΣ – ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ – IVF

Η ψυχολογική εμπλοκή στη διαδικασία της κύησης αρχίζει πολύ νωρίτερα από τη χρονική στιγμή που η κύηση θα συμβεί χρονικά (Covington D. and Rickabaugh B., 2006), δημιουργώντας μια συναισθηματική μετάβαση προς τη γονεϊκότητα. Αυτή η διαδικασία διακόπτεται από την «κρίση» της υπογονιμότητας, που βιώνεται σαν μια πιθανή μεταφορά στη μη γονεϊκότητα. Συνήθως σε αυτή τη χρονική στιγμή το ζευγάρι αναζητά ιατρική παρέμβαση.

Η επικράτηση «ψυχολογικής ανησυχίας» (distress score) των γυναικών κατά την πρώτη επίσκεψη στο ιατρείο υπογονιμότητας κυμαίνεται σε μελέτες από 46% έως 94% (Freeman *et al.*, 1985, Mahlstedt P.*et al.*, 1987).

Έχει παρατηρηθεί διαφορά στην αντίληψη και αντιμετώπιση του stress μεταξύ ανδρών και γυναικών, που περιγράφεται ως σεξουαλικός διμορφισμός σε σχέση με το stress. (Vamvakopoulos N.C. and Chrousos G.P., 1993). Παρατηρούνται μικρές διαφορές υπέρ των γυναικών, στις βαθμολογίες ερωτηματολογίων άγχους, State-Trait Anxiety Inventory (STAI), και κατάθλιψης (DES-S) (Freeman *et al.*, 1985) (Beaurepaire J. *et al.*, 1994), αλλά στατιστικά σημαντική διαφορά στη βαθμολογία του « ερωτηματολογίου θλίψης – υπογονιμότητας» (Fertility problem Inventory) (Newton *et al.*, 1999) υπέρ των γυναικών (Wichman L.C. *et al.*, 2011).

Μελέτη stress ανδρών που υπόκεινται σε μικρογονιμοποίηση (ICSI) δείχνουν μεγαλύτερο ποσοστό άγχους, σε σχέση με αυτούς που υπόκεινται σε απλή εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) (Boivin and Schmidt, 2005).

Η υπογονιμότητα είναι ένα ψυχολογικό τραύμα για τα περισσότερα ζευγάρια, το οποίο συχνά περιγράφεται σαν το πιο στρεσογόνο γεγονός της ζωής τους (Freeman E.W. *et al.* , 1985). Μια μελέτη υπογόνιμων γυναικών που συμμετείχαν σε ομαδική συμπεριφορική θεραπεία, είχαν παρόμοια συμπτώματα άγχους με αυτά γυναικών που διαγνώστηκαν με καρκίνο (Domar A.D. *et al.* , 1993). Τα scores κατάθλιψης του CED-S (ερωτηματολόγιο κατάθλιψης), μετά από αποτυχημένη IVF είναι υψηλότερα και από αυτά γυναικών που ήταν σε θεραπεία για καρκίνο και παρόμοια με αυτά που βρέθηκαν σε ζευγάρια που βίωσαν θάνατο ενός παιδιού τους (Wijngaarks-de Meij L. *et al.* , 2005). Γι αυτό παρατηρείται παραίτηση ορισμένων ζευγαριών από τη συνέχιση των προσπαθειών IVF (Olivius C. *et al.* , 2004), (Verberg M.F. *et al.* , 2008), (Rajkhowa M. *et al.* , 2006), (Van den Broek U. *et al.* , 2009).

Όσον αφορά στις ψυχιατρικές διαταραχές που μπορεί να παρουσιαστούν σε υπογόνιμες γυναίκες, σε μελέτη του 2004 από τους Chen T.H. *et al.*, βρέθηκε ποσοστό αυτών 42%. Με πιο συχνές τις διαταραχές άγχους (23,2%), κατάθλιψης (17%) και τις δυσθυμικές διαταραχές (9,8%). Οι γυναίκες με τις παραπάνω ψυχιατρικές διαταραχές δεν διέφεραν από τις φυσιολογικές όσον αφορά στην ηλικία, την εκπαίδευση, το εισόδημα ,τα χρόνια υπογονιμότητας και το ιστορικό προηγούμενης προσπάθειας υποβοηθούμενης αναπαραγωγής

3.1. Αγχогόνοι παράγοντες κατά την IVF

Τα υπογόνιμα ζευγάρια έρχονται αντιμέτωπα με δυσάρεστα συναισθήματα, όπως της απορίας γιατί να συμβεί αυτό σε εμάς, των τύψεων, για κάποια γεγονότα που μπορεί να προκάλεσαν την υπογονιμότητα, όπως μία τεχνητή διακοπή κύησης, η καθυστέρηση έναρξης προσπαθειών επίτευξης κύησης και της θλίψης. Αυτά δημιουργούν απομόνωση του ζευγαριού από το κοινωνικό περιβάλλον, εμμονή στην ενασχόληση με το πρόβλημα της υπογονιμότητας, διαταραχή της σεξουαλικής τους ζωής λόγω των προγραμματισμένων σεξουαλικών επαφών και της σύνδεσης της σεξουαλικής

επαφής με τη γονιμοποίηση και όχι με την ευχαρίστηση (Golombok S. *et al.*, 1992).

Η αντιμετώπιση της υπογονιμότητας απαιτεί παρεμβάσεις, πιεστικές ψυχολογικά, όπως ενέσιμη ορμονοθεραπεία, συχνές αιμοληψίες, υπερηχογραφική παρακολούθηση, διακολπική ωοληψία, η οποία χωρίς τη χρήση αναλγητικών ή αναισθητικών φαρμάκων είναι επώδυνη. Το υψηλό οικονομικό κόστος, όπως και εκ των προτέρων γνώση των χαμηλών ποσοστών κύησης που προσφέρονται ανά κύκλο, επιτείνουν την ψυχολογική πίεση κατά την θεραπεία.

Η ωοληψία [Oocyte Retrieval (OR)] και η εμβρυομεταφορά [Embryo Transfer (ET)]είναι δύο από τα πιο έντονα συναισθηματικά στάδια των κύκλων IVF. Η OR είναι τρόπος μηχανικής ωορρηξίας, η οποία εκτελείται διακολπικά και υπό υπερηχογραφικό έλεγχο, και λόγω του πόνου συνήθως χρησιμοποιούνται ενδοφλέβια αναλγητικά ή και αναισθητικά φάρμακα. Ο φόβος της επέμβασης και του πόνου όμως είναι υπαρκτός πριν την OR. Είναι όμως και ένας παράγοντας συναισθηματικής πίεσης, διότι και ο γιατρός και η ασθενής αντιλαμβάνονται ότι η αποτυχία λήψης ωαρίων εξαφανίζει τις πιθανότητες επιτυχίας (Seihfi M. *et al.*,1987).

Όμως η χρονική περίοδος μεταξύ ET και test κυήσεως έχει βρεθεί ότι είναι η πιο στρεσογόνος (Thia *et al.*, 2007), (Yong *et al.*, 2000a), (Emery *et al.*, 2003). Τα συναισθήματα είναι πολύ έντονα και ισορροπούν μεταξύ του να νιώθει έγκυος για λίγο και του να νιώθει ότι τα έμβρυα μπορεί να φεύγουν (Seihfi M. *et al.*,1987).

3.2. Άγχος και αποτέλεσμα της IVF

Μελέτες που ασχολήθηκαν με τη σχέση παρεκκλίνουσας αντίδρασης στο stress και χαμηλών ποσοστών κύησης στην IVF, παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, με ορισμένες μελέτες να υποστηρίζουν ότι υπάρχει σχέση (Buck Louis *et al.*, 2011), (Facchinetti F. *et al.*, 1997), (Sanders K.A. *et al.*, 1999), (Gallinelli A. and Volpe A., 2001), (Klonoff-Cohen H. *et al.*, 2001), (LiXH M.Y. *et al.*, 2011), (Smeenk J.M. *et al.*, 2005),

(Demyttenaere K. *et al.* , 1992), (Boivin J. *et al.*, 1995), (Barzilai-Pesach V. *et al.*, 2006) και άλλες να υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει σχέση (Anderheim L. *et al.*, 2005), (Sheiner E. *et al.* , 2003), (Merari D. *et al.*, 1992), (Harlow C.R. *et al.*, 1996), (Milad M.P *et al.* , 1998), ενώ υπάρχει και μια μελέτη που υποστηρίζει ότι υπάρχει θετική επιρροή του stress στο αποτέλεσμα της IVF (Cooper B.C. *et al.* , 2007).

Επιπρόσθετα υπάρχουν μελέτες που δείχνουν αρνητική επίδραση του stress και στην ανδρική γονιμότητα γενικά (Sheiner E.K. *et al.* , 2002), αλλά και στην IVF ειδικότερα (Ragni G. *et al.*, 1992), (Clarke R.N. *et al.*, 1999).

Βεβαίως υπάρχουν δύο μετα-αναλύσεις του 2011, η πρώτη των (Boivin J., 2011) ανέλυσε 14 προοπτικές μελέτες, εξετάζοντας το προ IVF stress και το αποτέλεσμα της προσπάθειας, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ των δύο και η δεύτερη των (Matthiesen S.M. *et al.*, 2011), που ανέλυσε 31 προοπτικές μελέτες , από το 1992 έως το 2009, που είχαν όμως μεγαλύτερη διακύμανση, στην ποιότητα του σχεδιασμού των μελετών, στα αποτελέσματα που αναλύθηκαν, στον ορισμό και την ταυτοποίηση της ψυχολογικής ανησυχίας (distress). Συμπέραναν ότι υπάρχει περιορισμένη επιρροή του ψυχολογικού stress και του ποσοστού κύησης μετά από την IVF, αλλά σημείωσαν την έλλειψη ποιοτικών μελετών και τον μικρό αριθμό των συμμετεχόντων στις μελέτες.

Μένει να ξεκαθαριστεί αν τα αντικρουόμενα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας οφείλονται στις δυσκολίες των μετρήσεων, στον ορισμό του θετικού αποτελέσματος, στις στατιστικές παρεκκλίσεις, στις ιδιοσυγκρασιακές διαφορές μεταξύ πληθυσμών, ή στην ύπαρξη ενός υποκειμένου παράγοντα, που για να διευκρινιστεί χρειάζονται μεγαλύτερα δείγματα στις μελέτες.

3.3. Ψυχολογικές παρεμβάσεις

Σε ανασκόπηση του 2007, 706 μελετών που αφορούσαν στις συναισθηματικές πτυχές της θεραπείας της υπογονιμότητας με IVF, των Verhaak C.M. και συνεργατών (Verhaak C.M. *et al*, 2007) βρέθηκε ότι οι γυναίκες που ξεκινούν θεραπεία με IVF διαφέρουν πολύ λίγο όσον αφορά στο

άγχος από τις γόνιμες. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι όταν αξιολογούνται οι γυναίκες έχουν ήδη κάνει το πρώτο βήμα για την επίλυση του προβλήματος της υπογονιμότητας επισκεπτόμενες τον ειδικό γιατρό. Φαίνεται ότι η διαδικασία προσαρμογής έχει ήδη αρχίσει από τη χρονική στιγμή της απόφασης αντιμετώπισης της υπογονιμότητας, πολύ δηλαδή πριν την IVF (Boivin J, 1995).

Επίσης οι περισσότερες γυναίκες δείχνουν να προσαρμόζονται ικανοποιητικά σε ανεπιτυχείς προσπάθειες IVF, όμως ένας υπολογίσιμος αριθμός έδειξε να παρουσιάζονται υποκλινικά συναισθηματικά προβλήματα (Verhaak *et al.*, 2007), άρα η ψυχολογική παρέμβαση θα μπορούσε να προσφερθεί σε αυτή την ομάδα γυναικών. Όμως δεν υπάρχουν αποδεδειγμένοι παράγοντες κινδύνου οι οποίοι να ταυτοποιούν αυτές τις γυναίκες, οπότε η παρέμβαση θα μπορούσε να προσφερθεί στις γυναίκες που τη ζητούν οι ίδιες.

Οι παρεμβάσεις από εξειδικευμένο στην συμβουλευτική της υπογονιμότητας άτομο μπορεί να είναι σε επίπεδο ατομικής, ομαδικής θεραπείας, ή θεραπείας ζεύγους. (Van den Broeck U.*et al.*,2010)

Σε μετα-ανάλυση του 2009 21 τυχαιοποιημένων μελετών υπήρξε ένδειξη της σημασίας των ψυχολογικών παρεμβάσεων στο ποσοστό κύησης, αλλά στατιστικά σημαντική σημασία είχαν οι ψυχολογικές παρεμβάσεις στα υπογόνιμα ζευγάρια, που δεν υποβαλλόταν σε θεραπεία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, όσον αφορά στο ποσοστό κύησης.(Hämmerli K.*et al.*.,2009)

Η συνεχής ενασχόληση με το πρόβλημα της υπογονιμότητας, ακόμη και με τη θετική του αντιμετώπιση, που είναι η έκφραση των συναισθημάτων, δημιουργεί καθήλωση στο πρόβλημα και μπορεί να έχει αρνητική επίδραση στο αποτέλεσμα της IVF (Panagoroulou E. *et al*, 2006). Ίσως η απόσπαση της προσοχής με ενασχόληση με άλλα ενδιαφέροντα, να έχει καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά στην αντιμετώπιση του άγχους, αλλά και στο αποτέλεσμα της IVF. (Rapoport-Hubschman N., 2009), (Rapoport-Hubschman N., 2009)

Ακόμη και κατά την κύηση οι γυναίκες και μάλιστα αυτές των οποίων η κύηση προέκυψε μετά από δύο ή και περισσότερες IVF χωρίς να παρουσιάζουν υψηλότερα scores άγχους STAI-I από αυτές που είχαν αυτόματη σύλληψη, εμφανίζουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα scores σε ερωτηματολόγια άγχους κύησης, ιδιαίτερα όσον αφορά στην επιβίωση και τη φυσιολογική εξέλιξη των εμβρύων τους, στην πιθανότητα τραυματισμού του νεογνού κατά τον τοκετό και στον σωματικό αποχωρισμό τους από το έμβρυο λόγω του τοκετού (McMahon *et al.*, 1997).

4. ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ ΣΑΛΙΟΥ

Η κορτιζόλη είναι ένα χαμηλού μοριακού βάρους (MB=362 Daltons) λιπόφιλο στεροειδές, το οποίο κυκλοφορεί στο πλάσμα σε ελεύθερη (ενεργή) μορφή και δεσμευμένη, με τη δεσμευτική των γλυκοκορτικοειδών πρωτεΐνη, την τρανσκορτίνη (GBP). Μόνο το 5% της εκκρινόμενης από το φλοιό των επινεφριδίων βρίσκεται σε ελεύθερη μορφή.

Η ελεύθερη κορτιζόλη λόγω του χαμηλού MB της και της λιπόφιλης ιδιότητάς της, διαπερνά εύκολα με παθητική διάχυση την κυτταρική μεμβράνη πολλών κυττάρων για να συνδεθεί με τους κυτταροπλασματικούς υποδοχείς της. Έτσι απαντάται σε σωματικά υγρά όπως το σάλιο, τα δάκρυα, ο ιδρώτας και απεκκρίνεται από τα ούρα ως ελεύθερη μορφή, γι αυτό και για πολλά χρόνια αποδείχθηκε χρήσιμη στην ενδοκρινολογία η μέτρηση κορτιζόλης ούρων 24/ώρου ('Salivary Cortisol. General Information', Technical Issues.).

Από το τη δεκαετία του 1980 άρχισε να χρησιμοποιείται η μέτρηση κορτιζόλης σάλιου σαν αξιόπιστος βιοχημικός δείκτης της επινεφριδιακής λειτουργίας (Vining *et al.*, 1983), (Kirschbaum and Hellhammer, 1989).

Η μέτρηση κορτιζόλης σάλιου είναι αξιόπιστος δείκτης της ελεύθερης κορτιζόλης, δηλαδή της βιολογικά ενεργούς μορφής της (Alpers *et al.*, 2003) ενώ η κορτιζόλη πλάσματος αντιστοιχεί στην ολική κορτιζόλη, ελεύθερη και δεσμευμένη. Μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει αξιόπιστη συσχέτιση των δύο

παραπάνω βιοχημικών δεικτών (Aardal and Holm, 1995), (Reid *et al.*, 1992), (Vining *et al.*, 1983). Μια ανασκόπηση του 2014, 57 μελετών, δείχνει ότι η κορτιζόλη σάλιου είναι αξιόπιστος δείκτης stress για ενήλικους και παιδιά. (Aguilar Cordero M.J.,2014)

Η συλλογή του δείγματος είναι φιλική για τον ασθενή (αναίμακτη), μη στρεσογόνος η ίδια, μπορεί να συλλεχθεί στο σπίτι, αφού η συγκέντρωση της κορτιζόλης στο σάλιο παραμένει σταθερή ακόμη και αν το δείγμα εκτεθεί σε ποικίλες θερμοκρασιακές διακυμάνσεις εκτός ψυγείου για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Επίσης η κορτιζόλη σάλιου δεν επηρεάζεται από επαναλαμβανόμενες καταψύξεις και αποψύξεις των δειγμάτων, γεγονός που την κάνει ακόμη πιο χρήσιμη στην έρευνα και στην καθημερινή κλινική πράξη (Clements and Parker, 1998).

Η συγκέντρωση της ελεύθερης κορτιζόλης στο πλάσμα και στο σάλιο δεν μεταβάλλεται με τη χρήση αντισυλληπτικών δισκίων ή την εξωγενή χορήγηση οιστρογόνων (Aardal E., 1995).

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης είναι να περιγραφεί η διακύμανση του stress κατά τη διάρκεια της IVF, να αξιολογηθεί το stress ανδρών και γυναικών με χρήση του STAI Inventory του Spielberger και με μέτρηση κορτιζόλης σάλιου των γυναικών σε διάφορες χρονικές στιγμές της θεραπείας και κατά τη διάρκεια της αναμονής του αποτελέσματος. Τέλος η συσχέτιση των παραπάνω με το αποτέλεσμα της IVF.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΕΣ

Προτάθηκε η συμμετοχή στη μελέτη σε ζευγάρια που απευθύνθηκαν στην Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής – Γυναικολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και

αποφασίστηκε η αντιμετώπιση της υπογονιμότητας με IVF. Η μελέτη διεξήχθη από τον Απρίλιο έως τον Ιούλιο 2014.

Γυναίκες ηλικίας μεγαλύτερης των 42 ετών, με ιστορικό ψυχιατρικής νόσου ή επεισοδίου αγχώδους συνδρομής, μεταβολικής νόσου, με FSH >12 IU/L, που θα χρησιμοποιούσαν καταψυγμένα έμβρυα, είχαν δυσκολία επικοινωνίας ή κατοικούσαν μακριά (ώστε να παρουσιάζεται δυσκολία στην επιστροφή στη Μ.Υ.Α. των δειγμάτων σάλιου μετά την εμβρυομεταφορά), αποκλείστηκαν.

Προτάθηκε η συμμετοχή σε 59 ζευγάρια και 53 δέχθηκαν. Ποσοστό ανταπόκρισης 89,8%.

1.1. Ανθρωπομετρικά στοιχεία.

Στα ανθρωπομετρικά στοιχεία των γυναικών παρατηρείται μεγάλο ποσοστό ανέργων γυναικών (44,4%) σε αντίθεση με τους άνδρες (6,7%) (πίνακας 1) και (πίνακας 2)

Πίνακας 1. ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΥΝΑΙΚΩΝ

	ΑΡΙΘ ΜΟΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΕΥΡΟΣ	ΠΟΣΟΣΤΟ
ΗΛΙΚΙΑ	53	35.7 ± 0,61 ^α	27-42	
ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ	45			
ΠΟΛΗ	27			60%
ΧΩΡΙΟ	8			17,8%
ΑΛΛΟΔΑΠΗ	10			22,2%
ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ	45			
ΠΟΛΗ	33			73,3%
ΧΩΡΙΟ	12			26,7%
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ	45			
Β/ΒΑΘΜΙΑ	31			68,9%
ΑΕΙ-ΤΕΙ	14			31,1%
ΕΡΓΑΣΙΑ	45			
ΔΗΜ.ΥΠΑΛΛΗΛΟΣ	10			22,2%
ΙΔΙΩΤ.ΥΠΑΛΛΗΛΟΣ	11			24,4%
ΕΛ. ΕΠΑΓΓ/ΤΙΑΣ	4			8,9%
ΑΝΕΡΓΗ-ΟΙΚΙΑΚΑ	20			44,4%
ΟΙΚΟΝ. ΕΠΙΠΕΔΟ	45			
ΧΑΜΗΛΟ	7			15,5%
ΜΕΤΡΙΟ	38			84,4%

^α Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

Πίνακας 2. ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΔΡΩΝ

	ΑΡΙΘ ΜΟΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΕΥΡΟΣ	ΠΟΣΟΣΤΟ
ΗΛΙΚΙΑ	53	38,9 ± 0,75 ^α	29-49	
ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΑΓΩΓΗΣ	45			
ΠΟΛΗ	21			46,7%
ΧΩΡΙΟ	18			40%
ΑΛΛΟΔΑΠΗ	6			13,3%
ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ	45			
ΠΟΛΗ	28			62,2%
ΧΩΡΙΟ	17			37,8%
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ	45			
Β/ΒΑΘΜΙΑ	35			77,8%
ΑΕΙ-ΤΕΙ	10			22,2%
ΕΡΓΑΣΙΑ	45			
ΔΗΜ.ΥΠΑΛΛΗΛΟΣ	8			17,8%
ΙΔΙΩΤ.ΥΠΑΛΛΗΛΟΣ	12			26,7%
ΕΛ. ΕΠΑΓΓ/ΤΙΑΣ	16			35,5%
ΑΓΡΟΤΗΣ	6			13,3%
ΑΝΕΡΓΟΣ	3			6,7%
ΟΙΚΟΝ. ΕΠΙΠΕΔΟ	45			
ΧΑΜΗΛΟ	8			17,8%
ΜΕΤΡΙΟ	37			82,2%

^α Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

1.2 Κατηγορίες στέρωσης

Από τις 53 γυναίκες οι 11 είχαν <2 έτη υπογονιμότητας (20,7%) και οι 42 είχαν 3-14 έτη (79,3%). Οι 20 έμπαιναν στον 1^ο κύκλο IVF (37,7%) και 33 στον 2^ο - 6^ο κύκλο (62,3%). 35 γυναίκες είχαν πρωτοπαθή υπογονιμότητα (66%) και 18 δευτεροπαθή (34%). Οι κατηγορίες στέρωσης ήταν: 1) ανδρικός παράγοντας 17 (32,1%), 2) σαλπιγγικός παράγοντας 6 (11,3%), 3) ανωοθυλακιόρρηξη 6 (11,3%), 4) ενδομητρίωση 1 (1,9%), 5) ανεξήγητη 17 (32,1%), 6) συνδυασμός παραγόντων 6 (11,3%) (πίνακας 3)

Πίνακας 3. Στοιχεία κλινικού ιστορικού και ιστορικού υπογονιμότητας

	ΑΡΙΘ ΜΟΣ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΕΥΡΟΣ	ΠΟΣΟΣΤΟ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΚΥΗΣΗΣ
ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ					
<18,5	4			7,5%	0%
18,5-24,9	34			64,1%	26,5%
25-29,9	8			15,1%	25%
>30	7			13,2%	14,3%
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	ΝΑΙ	22		41,5%	27,3%
	ΟΧΙ	33		62,3%	18,2%
ΕΤΗ ΥΠΟΓ/ΤΗΤΑΣ		4,19 ± 0,3 ^α	1-14		
Α΄ΠΑΘΗΣ	35			66%	20%
Β΄ΠΑΘΗΣ	18			34%	27,8%
ΑΙΤΙΑ ΥΠΟΓ/ΤΗΤΑΣ					
ΑΝΔΡΙΚΟΣ	17			32,1%	29,4%
ΣΑΛΠΙΓΓΙΚΟΣ	6			11,3%	33,3%
ΑΝΩΘΥΛΑΚΙΟΡΡΗΞΙΑ	6			11,3%	16,7%
ΕΝΔΟΜΗΤΡΙΩΣΗ	1			1,9%	0%
ΑΝΕΞΗΓΗΤΗ	17			32,1%	23,1%
ΣΥΝΔΙΑΣΜΟΣ	6			11,3%	16,7%
ΑΡ.ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΝ IVF					
ΚΥΚΛΟΣ		2,2 ± 0,2	1-6		
1 ^{ος} ΚΥΚΛΟΣ	20			37,7%	30%
>1 ^{ος} ΚΥΚΛΟΣ	33			62,3%	18,2%

^α Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

64% των γυναικών είχαν φυσιολογικό ΔΜΣ με ποσοστό κύησης 26,5%. 66% είχαν α΄παθή υπογ/τητα και 34% β΄παθή με ποσοστά κύησης 20% και 27,8% αντίστοιχα. Τα μεγαλύτερα ποσοστά κύησης είχαν οι γυναίκες με σαλπιγγικό παράγοντα στειρώσεως (33,3%) και αυτές που υποβαλλόταν σε 1^ο κύκλο IVF (30%). (πίνακας 3)

1.3. Πρόκληση πολυωοθυλακιορρηξίας

Χρησιμοποιήθηκαν το μακρύ ωοθυλακικό και το βραχύ πρωτόκολλο με GnRH αγωνιστή (triptoreline), σύμφωνα με τα κριτήρια της Μ.Υ.Α.

Στο μακρύ ωοθυλακικό ο αγωνιστής χορηγούνταν υποδόρια, σε δόση 0,1mg/ημέρα και όταν πιστοποιούνταν η απευαισθητοποίηση της υπόφυσης, με μέτρηση E₂ ορού την 12^η ημέρα (E₂<80pg/ml), άρχιζε η υποδόρια χορήγηση των σκευασμάτων FSH ή FSH-LH, σε δοσολογίες ανάλογες με το ιστορικό της ασθενούς και πάντως μικρότερες των 450 IU/ημέρα.

Στο βραχύ πρωτόκολλο η χορήγηση GnRH αγωνιστή άρχιζε ταυτόχρονα με τη χορήγηση των σκευασμάτων FSH ή FSH-LH, από τη 2^η ημέρα της εμμήνου ρύσεως.

Η παρακολούθηση της πρόκλησης πολυωοθυλακιορρηξίας γινόταν με μετρήσεις E₂ ορού σε συνδυασμό με υπερηχογραφική αξιολόγηση του αριθμού και του μεγέθους των ωοθυλακίων. Όταν περισσότερα από 3 ωοθυλάκια είχαν μέγεθος > 16mm, γινόταν η χορήγηση 5000 IU χοριακής γοναδοτροπίνης για την τελική ωρίμανση των ωαρίων και 36 ώρες μετά γινόταν η ωοληψία. Σε 25 έγινε IVF (52,1%) και σε 23 έγινε ICSI (47,9%).

Η ωχρινική υποστήριξη γινόταν με κολπική χορήγηση προγεστερόνης, από την επόμενη ημέρα της ωοληψίας και αφού υπήρχε γονιμοποίηση. Η εμβρυομεταφορά (ET) 1-3 εμβρύων (ο μέγιστος αριθμός εμβρυομεταφερομένων εμβρύων σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία είναι 3 σε ηλικίες κάτω των 40 ετών και έως 4 έμβρυα σε ηλικίες άνω των 40 ετών) έγινε την D₂ σε 16 γυναίκες (35,5%), την D₃ σε 21 γυναίκες (46,7%) και την D₅ σε 8 (17,8) γυναίκες. Συνολικά 45 γυναίκες έφθασαν σε εμβρυομεταφορά (84,9% /κύκλο και 90% /ωοληψία).

Από τις 8 γυναίκες που δεν έφθασαν σε ET σε 3 ακυρώθηκε ο κύκλος (5,7%), λόγω υπερανταπόκρισης σε 2 και χαμηλής ανταπόκρισης σε 1 γυναίκα. 2 δεν είχαν ωάρια κατά την OR (3,7%) και σε 3 δεν επιτεύχθηκε γονιμοποίηση των ωαρίων (5,7%).(πίνακας 6)

Η πιστοποίηση της κύησης ορίστηκε ως η υπερηχογραφική παρουσία σάκου κύησης 10-12 ημέρες μετά τη θετική μέτρηση β-hCG στον ορρό.

ΜΕΘΟΔΟΙ

1. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΓΧΟΥΣ ΜΕ ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ STAI-I FORM Y.

Το ερωτηματολόγιο άγχους State-Trait Anxiety Inventory (STAI) του Spielberger είναι ένα σύντομο ερωτηματολόγιο αυτοαναφοράς για την αυτοαξιολόγηση του άγχους ως κατάσταση (STAI-S) και ως προδιάθεση (STAI-T) στους ενήλικους. Η ιδέα του παραπάνω αναφερόμενου διαχωρισμού του άγχους πρώτα αναφέρθηκε από τον Cattell το 1963 και διαμορφώθηκε περεταίρω από τον Spielberger το 1964 (Spielberger CD,1966), (Spielberger CD,1970). Με βάση τη συσσωρευμένη γνώση που αποκτήθηκε από την εκτεταμένη χρήση του στην έρευνα και στην κλινική πρακτική, το 1979 ξεκίνησε μια αναθεώρησή του, η οποία κατέληξε στη φόρμα Y που εκδόθηκε το 1985 και χρησιμοποιείται ευρέως μέχρι σήμερα.

Η κλίμακα του STAI αποτελείται από 40 προτάσεις, οι οποίες αναφέρονται σε 2 υποκλίμακες που αφορούν: α) στη συναισθηματική κατάσταση του συμμετέχοντος κατά τη χρονική στιγμή συμπλήρωσης του ερωτηματολογίου (δηλ. παροδικό άγχος ως αποτέλεσμα της παρούσης κατάστασης), και β) στη συναισθηματική κατάσταση του ατόμου γενικότερα (δηλ. μόνιμο άγχος ως χαρακτηριστικό της προσωπικότητας). Η αξιολόγηση πραγματοποιείται στη βάση μιας τετράβαθμης κλίμακας τύπου Likert. (1-2-3-4), με την τιμή 4 να παραπέμπει σε υψηλά επίπεδα άγχους. Πέραν του εξαγόμενου δείκτη για κάθε υποκλίμακα, προκύπτει ένας γενικός δείκτης εκτίμησης του άγχους με την άθροιση όλων των προτάσεων.

Οι ερωτήσεις 1,2,5,8,10,11,15,16,20,21,26,27,33,36 και 39 βαθμολογούνται αντίστροφα (4=1), (3=2), (2=3), (1=4). Το εύρος των τιμών

της κάθε υποκλίμακας είναι από 20 έως 80. Το ερωτηματολόγιο παρουσιάζει επαρκή εγκυρότητα και αξιοπιστία.

Το STAI έχει μεταφραστεί και προσαρμοστεί σε 48 γλώσσες. Μετάφραση και στάθμιση για τον ελληνικό πληθυσμό έγινε το 2006 από τον Κ. Φουντουλάκη (Fountoulakis KN ,2006). Το State score για τους υγιείς ήταν 24.95 ± 11.36 και το Trait score ήταν 27.88 ± 11.43 . Για τους ασθενείς σε κατάθλιψη ήταν 44.91 ± 9.18 και 43.50 ± 9.99 αντίστοιχα. Άρα το όριο για τις γυναίκες με άγχος της μελέτης μας είναι 36,31 για το STAI-S και 39,31 για το STAI-T. Τα scores του ελληνικού πληθυσμού είναι αξιοσημείωτα χαμηλότερα από άλλους πληθυσμούς, όπως τον αμερικανικό, τον αγγλικό, τον ιαπωνικό κ.α, γεγονός που αποδεικνύει τις ψυχομετρικές διαφορές μεταξύ πληθυσμών και μία κατάσταση «ευζωίας» των Ελλήνων (Fountoulakis KN ,2006).

Το ερωτηματολόγιο που δόθηκε στους συμμετέχοντες στη μελέτη είναι αυτό που φαίνεται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Ερωτηματολόγιο μελέτης (C.D. Spilberger STAI Ελληνική Έκδοση, μορφές Y-1 και Y-2.)

STATE – TRAIT ANXIETY INVENTORY - STAI

C.D. Spilberger

STAI – Ελληνική Έκδοση, μορφή Y-1

Οδηγίες: Παρακάτω υπάρχουν φράσεις που οι άνθρωποι συνηθίζουν να χρησιμοποιούν για να περιγράψουν τον εαυτό τους. Διαβάστε προσεκτικά κάθε φράση και μετά βάλτε σε κύκλο τον αντίστοιχο αριθμό στα δεξιά της φράσεως για να δείξετε πως αισθάνεστε τώρα δηλαδή αυτή τη στιγμή. Δεν υπάρχουν σωστές ή λανθασμένες απαντήσεις. Μη ξοδεύετε πολύ ώρα για κάθε φράση αλλά δώστε την απάντηση που φαίνεται να ταιριάζει πιο καλά σε αυτό που αισθάνεστε τώρα.

		Καθόλου 1	Κάπως 2	Μέτρια 3	Πολύ 4
1.	Αισθάνομαι ήρεμος/η	1	2	3	4
2.	Αισθάνομαι ασφαλής	1	2	3	4
3.	Νιώθω μία εσωτερική ένταση	1	2	3	4

4.	Αισθάνομαι σφιγμένος	1	2	3	4
5.	Αισθάνομαι άνετα	1	2	3	4
6.	Αισθάνομαι αναστατωμένος/η	1	2	3	4
7.	Ανησυχώ αυτή τη στιγμή για ενδεχόμενες ατυχίες	1	2	3	4
8.	Αισθάνομαι ικανοποιημένος/η	1	2	3	4
9.	Αισθάνομαι φοβισμένος/η	1	2	3	4
10.	Αισθάνομαι βολικά	1	2	3	4
11.	Αισθάνομαι αυτοπεποίθηση	1	2	3	4
12.	Αισθάνομαι νευρικότητα	1	2	3	4
13.	Τρέμω από νευρικότητα	1	2	3	4
14.	Είμαι αναποφάσιστος/η	1	2	3	4
15.	Είμαι χαλαρωμένος/η	1	2	3	4
16.	Αισθάνομαι ευχαριστημένος/η	1	2	3	4
17.	Ανησυχώ	1	2	3	4
18.	Είμαι μπερδεμένος/η	1	2	3	4
19.	Αισθάνομαι σταθερότητα	1	2	3	4
20.	Αισθάνομαι ευχάριστα	1	2	3	4

STATE – TRAIT ANXIETY INVENTORY - STAI

C.D. Spilberger

STAI – Ελληνική Έκδοση, μορφή Y-2

Οδηγίες: Παρακάτω υπάρχουν φράσεις που οι άνθρωποι συνηθίζουν να χρησιμοποιούν για να περιγράψουν τον εαυτό τους. Διαβάστε προσεκτικά κάθε φράση και μετά βάλτε σε κύκλο τον αντίστοιχο αριθμό στα δεξιά της φράσεως για να δείξετε πως αισθάνεστε συνήθως. Δεν υπάρχουν σωστές ή λανθασμένες απαντήσεις. Μη ξοδεύετε πολύ ώρα για κάθε φράση αλλά δώστε την απάντηση που φαίνεται να ταιριάζει πιο καλά σε αυτό που αισθάνεστε γενικά.

		Καθόλου 1	Κάπως 2	Μέτρια 3	Πολύ 4
21.	Αισθάνομαι ευχάριστα	1	2	3	4
22.	Αισθάνομαι νευρικός/η και ανήσυχος/η	1	2	3	4
23.	Είμαι ικανοποιημένος/η με τον εαυτό μου	1	2	3	4
24.	Εύχομαι να μπορούσα να είμαι τόσο ευτυχισμένος οι άλλοι φαίνονται να είναι	1	2	3	4
25.	Αισθάνομαι αποτυχημένος/η	1	2	3	4

26.	Αισθάνομαι αναπαυμένος/η	1	2	3	4
27.	Είμαι ήρεμος/η, ψύχραιμος/η και συγκεντρωμένος	1	2	3	4
28.	Αισθάνομαι πως οι δυσκολίες συσσωρεύονται ώστε να μη μπορώ να τις ξεπεράσω	1	2	3	4
29.	Ανησυχώ υπερβολικά πολύ για κάτι που στην πραγματικότητα δεν έχει σημασία	1	2	3	4
30.	Είμαι χαρούμενος/η	1	2	3	4
31.	Κάνω δυσάρεστες σκέψεις	1	2	3	4
32.	Μου λείπει η αυτοπεποίθηση	1	2	3	4
33.	Αισθάνομαι ασφαλής	1	2	3	4
34.	Παίρνω εύκολα αποφάσεις	1	2	3	4
35.	Αισθάνομαι ανεπαρκής	1	2	3	4
36.	Είμαι ικανοποιημένος/η	1	2	3	4
37.	Κάποια ασήμαντη σκέψη μου περνά από το μυαλό ενοχλεί	1	2	3	4
38.	Παίρνω τις απογοητεύσεις τόσο πολύ στα σοβαρά δεν μπορώ να τις διώξω από τη σκέψη μου	1	2	3	4
39.	Είμαι ένας σταθερός χαρακτήρας	1	2	3	4
40.	Έρχομαι σε μια κατάσταση εντάσεως ή αναστατώσεως σκέπτομαι τις τρέχουσες ασχολίες και τα ενδιαφέροντα μ	1	2	3	4

STATE – TRAIT ANXIETY INVENTORY – STAI (Spilberger C.D.)

(μετάφραση-στάθμιση ΚΝ Φουντουλάκης και συν. Ann Gen. Psych, 2006:5:2)

Δημογραφικά στοιχεία

Ηλικία:

Εκπαίδευση:

Δημοτικό Γυμνάσιο Λύκειο ΑΕΙ/ΤΕΙ

Οικογενειακή κατάσταση:

Έγγαμος Άγαμος

Εργασία:

Ναι Όχι

Οικονομικό επίπεδο:

Χαμηλό Μέτριο Υψηλό

Τόπος καταγωγής (ανατροφής):

Πόλη Χωριό Αλλοδαπή

Τόπος κατοικίας:

Πόλη Χωριό Αλλοδαπή

Ερωτηματολόγιο μελέτης

Τα ερωτηματολόγια δόθηκαν προς συμπλήρωση και στους άνδρες και στις γυναίκες την ημέρα της ΕΤ, οπότε έμεναν στη Μ.Υ.Α. για 3 ώρες μετά την ΕΤ, κατά τη συνήθη πρακτική της μονάδας. Επιλέχθηκε αυτή η ημέρα γιατί οι γυναίκες και οι άνδρες είναι απαλλαγμένοι πλέον από τους αγχογόνους παράγοντες της θεραπείας και παραμένει μόνο το άγχος της έκβασης μετά την ΕΤ, έτσι ώστε να μην υπερεκτιμηθεί το άγχος ως κατάσταση (state anxiety) και επίσης διότι δεν έχει μελετηθεί ιδιαίτερα το άγχος κατά την ημέρα αυτή. Συμπεριελήφθησαν και οι άνδρες στη μελέτη, διότι θεωρούμε ότι συμμετέχουν στη διαχείριση του άγχους των συζύγων τους.

2. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΣΑΛΙΟΥ

Δόθηκαν οδηγίες στις ασθενείς για συλλογή των δειγμάτων σάλιου αμέσως μετά την αφύπνιση και γύρω στις 8 π.μ. οπότε η κορτιζόλη έχει υψηλό εύρος (Matsuda S., 2012), χωρίς να έχουν βουρτσίσει τα δόντια τους, ή να έχουν φάει ή πιεί κάτι ή να έχουν καπνίσει.

Για τη συλλογή του σάλιου χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Salivette Cotton (Starsdet Co., Germany), χωρίς κιτρικό οξύ για αύξηση της σιελόρροιας, η οποία παρέχει δείγμα σάλιου απαλλαγμένο από στερεές ουσίες ή βλέννη. Αποτελείται από 2 φιαλίδια τοποθετημένα το ένα μέσα στο άλλο και με κοινό πώμα. Στο εσωτερικό φιαλίδιο είναι τοποθετημένο κυλινδρικό κομάτι συμπαγούς βαμβακιού, που τοποθετείται στο πλάι του στόματος για τη συλλογή του σάλιου. (εικ. 4) Το εσωτερικό φιαλίδιο έχει οπή στον πυθμένα του, ώστε να περάσει από εκεί το καθαρό σάλιο μετά τη φυγοκέντρηση και να συσσωρευθεί στον πυθμένα του εξωτερικού φιαλιδίου. Έτσι η συλλογή του καθαρού σάλιου γίνεται χωρίς να υπάρξει επαφή με το κυλινδρικό βαμβάκι του Salivette, για την αποφυγή μολύνσεων.

Εικόνα 4. Συσσκευή συλλογής δείγματος σάλιου Salivette



Συστήθηκε στις συμμετέχουσες στη μελέτη να κρατήσουν το βαμβακοφόρο στυλεό του Salivette για 4-5 λεπτά στο στόμα τους και αφού το επανατοποθετήσουν στη συσκευή Salivette, να το αποθηκεύσουν στη συντήρηση του ψυγείου έως τη μεταφορά του στο νοσοκομείο με παγοκύστη. Η μεταφορά έγινε την ίδια ημέρα για τα δείγματα F2, F3 και F4 και μέσα σε 5 ημέρες περίπου, για τα δείγματα F1, F5, F6 και F7. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 2000 στρ/λεπτό, για 10 λεπτά, τοποθέτηση του καθαρού δείγματος (σάλιου) σε eppendorfs των 2ml και φύλαξή του στους -20° C έως την συνολική ανάλυσή τους, με τη μέθοδο της ραδιοανοσοενζυμικής ανάλυσης RIA (Radioimmunoassay).

Οι διαμεθοδολογικοί (intra- assay) και ενδομεθοδολογικοί (interassay) συντελεστές διακύμανσης (CV) ήταν 5,8% και 9,2% αντίστοιχα, σύμφωνα με τον κατασκευαστή. Η μέτρηση της εκπεμπόμενης ραδιενέργειας έγινε με τη συσκευή ανάλυσης Packard Cobra II Gamma Counter Model 5002 (GMI Co, US). Η διαδικασία ανάλυσης περιγράφεται στον πίνακα 5.

Πίνακας 5. Περίληψη της διαδικασίας για την εξέταση δειγμάτων σάλιου και ωοθυλακικού υγρού.

Διαδικασία	Βαθμονομητής και δείγματα αναφοράς	Δείγματα σάλιου	Σωληνάρια για ολικές κρούσεις (T)
1: Προσθήκες Στα επιστρωμένα με αντισώματα σωληνάρια προστέθηκαν: - τα βαθμονομητής και τα δείγματα αναφοράς - τα δείγματα σάλιου - τον ιχνηθέτη	50 μ L ----- 500 μ L	----- 50 μ L 500 μ L	----- ----- 500 μ L
Ανακινήθηκαν με τη βοήθεια του μίξερ τύπου vortex			
2: Επώαση 1 ώρα στους 18-25°C με ανάδευση (400 rpm)			
3: Μέτρηση Αφαιρέθηκαν προσεκτικά τα περιεχόμενα των σωληναρίων (εκτός από τα 2 σωληνάρια για τις ολικές κρούσεις) Μετρήθηκε η ραδιενέργεια όλων των σωληναρίων για τις δεσμευμένες (B) και τις ολικές (T) κρούσεις.			

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων υπολογίστηκαν με παρεμβολή στην πρότυπη καμπύλη. Η καμπύλη χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων όλων των δειγμάτων που γίνεται ταυτόχρονα με την εξέταση των βαθμονομητών.

3. ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ, ΔΙΑΙΡΕΣΗ, ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΕΜΒΡΥΩΝ

Στις 16-18 ώρες μετά το ICSI και στις 18-20 ώρες μετά το IVF μετρήθηκε το ποσοστό γονιμοποίησης FR% (Fertilization Rate), ως η αναλογία των ζυγωτών που εμφάνισαν 2 προπυρήνες 2PN (2 pronuclei), προς τα M II

ωάρια, για το ICSI και προς το συνολικό αριθμό των ληφθέντων ωαρίων για το IVF. ΜII ωάρια ήταν αυτά που βρίσκονταν μετά την ωοληψία στη Μετάφαση II, είχαν δηλαδή εκβάλλει το 1^ο πολικό σωμάτιο.

Στην αποτυχία γονιμοποίησης συμπεριελήφθησαν και τα ωάρια με περισσότερους από 2 προπυρήνες, με 1 προπυρήνα και τα ανώριμα GV (Germinal Vesicle), που βρισκόταν δηλαδή στην Πρόφαση I.

Τη δεύτερη ημέρα μετά την ωοληψία μετρήθηκε το ποσοστό διαίρεσης CR% (Cleavage Rate), ως η αναλογία των εμβρύων με 2 και περισσότερα κύτταρα προς τα γονιμοποιημένα ωάρια.

Την 3^η ημέρα από την ωοληψία αξιολογήθηκε η ποιότητα των εμβρύων ES (Embryo Score), σύμφωνα με τη μέθοδο που προτάθηκε από τους Ανυφαντής και συνεργάτες (Anifandis *et al.*, 2010). Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο υπάρχουν 3 βαθμολογίες, το άθροισμα των οποίων δίνει την τελική αξιολόγηση:

1: Απόλυτος αριθμός βλαστομεριδίων (4-8)

2: Βαθμολόγηση ποσοστού κατάτμησης με: 4 για 0% κατάτμηση, 3 για 5%-10%, 2 για 10%-20% και 1 για κατάτμηση >20%.

3: Κανονικότητα των βλαστομεριδίων, με 2 για κανονικά βλαστομερίδια και 1 για μη κανονικά.

Το ανώτατο score μπορεί να είναι 14. Εάν η εμβρυομεταφορά γινόταν τη 2^η ημέρα από την ωοληψία, το ES αναγόταν στο ES της 3^{ης} ημέρας μετά την ωοληψία. Το άριστο ES της 2^{ης} ημέρας είναι 8 και της 3^{ης} ημέρας είναι 14. Άρα μία μέση τιμή ES = 11 είναι η άριστη μέση τιμή του ES των D₂ και D₃.

CES (Cumulative Embryo Score) είναι το άθροισμα των ES όλων των εμβρύων.

MSEQ (Mean Score of Embryo Quality) είναι ο μέσος όρος της βαθμολογίας της ποιότητας των εμβρύων και προκύπτει από τη διαίρεση του CES με τον αριθμό των εμβρύων.

MSET είναι το MSEQ των εμβρυομεταφερόμενων εμβρύων και προκύπτει από τη διαίρεση του CES των εμβρυομεταφερομένων εμβρύων, με τον αριθμό των εμβρύων αυτών.

Η ημέρα της εμβρυομεταφοράς (ET) επιλεγόταν ανάλογα με την ποιότητα των εμβρύων και το ιστορικό της ασθενούς και μπορεί να ήταν D₂, D₃, ή D₅ για ET βλαστοκύστεων. Ο μέγιστος αριθμός αριθμός εμβρυομεταφερομένων εμβρύων ήταν 3, σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία και σε άμεση εξάρτηση από την ποιότητα των εμβρύων και το ιστορικό της ασθενούς.

12 ημέρες μετά την εμβρυομεταφορά γινόταν η μέτρηση της β-hCG και τιμές >15 IU/ml θεωρούνταν θετικό αποτέλεσμα. Η κλινική κύηση επιβεβαιωνόταν με την υπερηχογραφική αναγνώριση εμβρυικού σάκου 10-15 ημέρες μετά το θετικό αποτέλεσμα της β-hCG.

4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.

Η κανονικότητα της κατανομής των αριθμητικών αποτελεσμάτων ελέγχθηκε με one sample Kolmogorov-Smirnov test. Οι ποσοτικές ανεξάρτητες μεταβλητές συγκρίθηκαν με το Students *t* –test. Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής (mean ± standard error of the mean SEM). Η ύπαρξη σχέσης μεταξύ των μεταβλητών ελέγχθηκε με Spearman correlation coefficient. Το στατιστικό πακέτο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Statistical Package for the Social Sciences (SPSS version 20.0) Η σημαντικότητα καθορίστηκε για τιμές του $p < 0,05$

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τις 45 γυναίκες που έφθασαν σε ET προέκυψαν 12 κυήσεις εκ των οποίων η 1 ήταν παλίνδρομη και 1 εξωμήτριος. Ποσοστά κύησης: 22,6% /κύκλο, 24% /OR και 26,7% /ET. Οι κυήσεις μετά από IVF ήταν 5 (20%/ET)

και μετά από ICSI ήταν 7(30,4%/ET). Ποσοστά ανάλογα με αυτά που αναφέρθηκαν στην ESHRE και αφορούσαν τα ποσοστά κύησης 31 ευρωπαϊκών χωρών για το 2010 (33.2%/ET μετά από IVF και 32.0%, /ET μετά από ICSI) (Kurka MS, 2014).(πίνακας 6)

Πίνακας 6. Ποσοστά κύησης.

		ΚΥΗΣΕΙΣ	ΠΟΣΟΣΤΑ ΚΥΗΣΕΙΣ	ΠΟΣΟΣΤΑ ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΩΝ ΚΥΗΣΕΩΝ
ΚΥΚΛΟΙ	53		22,6%	18,9%
ΑΚΥΡΩΣΕΙΣ	3		5.7%	
ΩΟΛΗΨΙΕΣ	50		24%	20%
ΟΧΙ ΩΑΡΙΑ	2		4%	
IVF	25	5	20%	20%
ICSI	23	7	30,4%	21.7%
ΟΧΙ ΓΟΝ/ΣΗ-ΔΙΑΙΡΕΣΗ	3		6.25%	
ΕΜΒΡΥΟΜΕΤΑΦΟΡΕΣ	45	12	26,7%	22,2%
ΚΥΗΣΕΙΣ	12			
ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΕΣ- ΕΞΩΜΗΤΡΙΕΣ	2 (ICSI)		16,7%	

Η ηλικία, ο ΔΜΣ, τα έτη υπογονιμότητας, η FSH της 2^{ης} ημέρας της εμμηνου ρύσεως, ο συνολικός αριθμός ωαρίων, ο αριθμός ωαρίων MII, το CR και το MSET δεν έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ εγκύων και μη εγκύων γυναικών. Μόνο το FR των εγκύων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ($p=0,038$) (πίνακας 7)

Πίνακας 7. Σύγκριση βιολογικών και εμβρυολογικών παραμέτρων μεταξύ εγκύων και μη εγκύων γυναικών.

	ΟΛΕΣ ^α	ΕΓΚΥΕΣ ^α (αρ.=12)	ΜΗ ΕΓΚΥΕΣ ^α (αρ.=33)	P Value
ΗΛΙΚΙΑ	35.7 ± 0.6	35,3 ± 1,4	35.6 ± 0,7	0,87
FSH	6.6 ± 0.4	6.6 ± 6	6.4 ± 0,4	0,69
ΔΜΣ	24 ± 0.6	23 ± 1,1	23.8 ± 0,8	0,56
ΕΤΗ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ	4,2 ± 0,3	3,3 ± 0,6	4,5 ± 0,4	0,12
ΑΡ. ΩΑΡΙΩΝ	5,3 ± 0,5	5,4 ± 0,7	6 ± 0,7	0,53
ΑΡ ΩΑΡΙΩΝ ΜΙΙ	5,1 ± 0,6	4,4 ± 0,7	5,7 ± 3,6	0,28
ΠΟΣΟΣΤΟ ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗΣ	73,7± 3,8	86,2% ± 4,6%	72,8% ± 4%	0,038
ΠΟΣΟΣΤΟ ΔΙΑΙΡΕΣΗΣ	79,2 ±3,6	74,7% ± 6,5%	82,7% ± 3,7%	0,3
MSET	10 ± 0,4	11 ± 0.6	9.9 ± 0.4	<u>0,1</u>

^α Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± το τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

Πίνακας 8. Σύγκριση τιμών κορτιζόλης και STAI scores σε έγκυες και μη έγκυες (που έφτασαν σε ΕΤ).

	ΟΛΕΣ (n=45)	ΕΓΚΥΕΣ (n=12)	ΜΗ ΕΓΚΥΕΣ (n=33)	P Value
STAI-S	37.1 ± 1.5	37 ± 3.4	37.2 ± 1.7	0,86
STAI-T	39.4 ± 1.4	40.9 ± 3.2	39.3 ± 1.6	0,66
F1 (προ θεραπείας)	4,9 ± 0,4	4,2 ± 0,9 ^α	4,9 ± 0,5 ^α	0,54
F2 (8 ^η ημ.θεραπείας)	5,2 ± 0,3	4,8 ± 0,8 ^α	5,2 ± 0,4 ^α	0,62
F3 (ημ. OR)	5,1 ± 0,5	5,3 ± 0,7 ^α	5 ± 0,4 ^α	0,7
F4 (D ₂)	5,1 ± 0,3	5,5 ± 1 ^α	4,9 ± 0,6 ^α	0,6
F5 (D ₃)	4,4 ± 0,6	3,9 ± 0,9 ^α	4,6 ± 0,8 ^α	0,61
F6 (D ₄)	4,6 ± 0,5	3,3 ± 0,8 ^α	5,3 ± 0,5 ^α	0,039
F7 (D ₅)	4,9 ± 0,4	3,8 ± 0,7 ^α	5,5 ± 0,5 ^α	<u>0,08</u>

Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± το τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

^α οι μονάδες μέτρησης κορτιζόλης είναι nmol/L

Δεν υπάρχει διαφορά στην αυτοαξιολόγηση του stress με STAI-S και STAI-T μεταξύ εγκύων και μη εγκύων γυναικών (p=0,86 και p=0,66 αντίστοιχα). Υπάρχει όμως στατιστικά σημαντική μείωση της (F6) την D₄ μετά την OR (p=0,039) και τάση μείωσης της (F7) την D₅ μετά την OR (p=0,08) στις εγκύους. (Πίνακας 8)

Πίνακας 9. Συσχέτιση βιολογικών, εμβρυολογικών και βιοχημικών παραμέτρων μεταξύ εγκύων και μη εγκύων γυναικών.

	E ₂ ημ hCG	ΩΑΡΙΑ	FR	CR	MSEQ	MSET
FSH	-,379* ,043	-,410** ,007				
E ₂ ημ hCG		,632** ,000				,012 NS
FSH IU	-,460** ,008	-,347* ,015				
ΑΡ. ΩΑΡΙΩΝ			-,050 NS	-,311* ,035		,179 NS
STAI-S ♀		,074 NS	-,202 NS	-,113 NS	-,350* ,020	-,181 NS
STAI-T ♀		,050 NS	-,039 NS	-,170 NS	-,262 NS	-,145 NS

* Επισήμανση του p<0.05

**Επισήμανση του p<0,01

Σε Pearsons correlation test μεταξύ όλων των ποσοτικών μεταβλητών, βρέθηκε: αρνητική συσχέτιση μεταξύ της FSH και της τιμής της E2 (ημ hCG) και του αριθμού ωαρίων ($p=0,43$ και $p=0,07$), όπως ήταν αναμενόμενο. Αρνητική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του συνολικού αριθμού των μονάδων (IU) FSH που χορηγήθηκαν και της τιμής της E2 (ημ hCG) και του αριθμού ωαρίων ($p=0,08$ και $p=0,015$ αντίστοιχα), διότι πολλές μονάδες FSH έπαιρναν μόνο οι γυναίκες με χαμηλή ανταπόκριση, οι οποίες είχαν χαμηλή τιμή της E2 (ημ hCG) και μικρό αριθμό ωαρίων, όπως ήταν αναμενόμενο.

Τα STAI-S, T \varnothing είχαν αρνητική, αλλά όχι στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα FR, CR, MSEQ και MSET, εκτός από το STAI-S \varnothing που είχε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με την ποιότητα των εμβρύων (MSEQ) ($p=0,2$) (πίνακας 9)

Οι τιμές της F σάλιου έχουν μεταξύ τους θετική συσχέτιση, πολλές φορές στατιστικά σημαντική, γεγονός που υποδηλώνει ότι όταν ξεκινά η θεραπεία με stress αυτό συνεχίζεται σε όλη τη διάρκεια της προσπάθειας (πίνακας 10)

Πίνακας 10. Συσχέτιση τιμών κορτιζόλης σάλιου μεταξύ τους

	F1	F2	F3	F4	F5	F6
F1	1	,636 ,000	,445 ,007	,010 ,965	,483 ,050	,677 ,003
F2	,636 ,000	1	,589 ,000	,312 ,113	,662 ,001	,474 ,026
F3	,445 ,007	,589 ,000	1	,068 ,710	,516 ,014	,359 ,078
F4	,010 ,965	,312 ,113	,068 ,710	1	,447 ,109	,038 ,877
F5	,483 ,050	,662 ,001	,516 ,014	,447 ,109	1	,423 ,063
F6	,677 ,003	,474 ,026	,359 ,078	,038 ,877	,423 ,063	1
F7	,365 ,104	,402 ,047	,251 ,197	,081 ,734	,430 ,058	,907 ,000

* Επισήμανση του $p<0.05$

**Επισήμανση του $p<0,01$

Σύμφωνα με τα προαναφερθέντα όρια για τον ελληνικό πληθυσμό (Fountoulakis KN ,2006) για τις γυναίκες τα θετικά STAI-S ήταν 22 (48,9%) και τα θετικά STAI-T ήταν 23 (51,1%). Για τους άνδρες για το STAI-S ήταν 24 (53.3%) και για το STAI-T 22 (48,9%). Η συσχέτιση των STAI-S και STAI-T ανδρών - γυναικών με Pearsons correlation έδειξε ότι τα STAI-S και STAI-T ανδρών – γυναικών έχουν θετική συσχέτιση, αλλά όχι στατιστικά σημαντική $p=0.96$ και $p=0,99$ αντίστοιχα. (πίνακας 11)

Πίνακας 11. Συσχέτιση STAI-S και STAI-T ανδρών -γυναικών

	STAI-S ♀	STAI-T ♀
STAI-S ♂	,260 ,096	
STAI-T ♂		,001 ,995

Σε 2 *t-test* που έγιναν 1) μεταξύ θετικών και αρνητικών STAI-S και 2) μεταξύ θετικών και αρνητικών STAI-T των γυναικών, βρέθηκε ότι οι γυναίκες με STAI-S θετικό είχαν μεγαλύτερο αρ. ωαρίων, υψηλότερο FR, χαμηλότερο CR και MSET και υψηλότερες τιμές F σάλιου σε όλες τις ημέρες, με διαφορά μέσων τιμών όμως μη στατιστικά σημαντική (πίνακας 11)

Πίνακας 11. Σύγκριση εμβρυολογικών και βιοχημικών παραμέτρων μεταξύ STAI-S ♀ ≤36.31 και STAI-S ♀ >36.31

	Διαφορά μέσης τιμής	P Value
ΑΡ. ΩΑΡΙΩΝ	-0,5 ± 1 ^α	0,62
FR	-8,4 ± 8,6 ^α	0,34
CR	10,9 ± 8,2 ^α	0,19
MSET	0,8 ± 0,9 ^α	0,39
F1 (προ θεραπείας)	-0,9 ± 0,9 ^α	0,31
F2 (8 ^η ημ.θεραπείας)	-0,7 ± 0,7 ^α	0,3
F3 (ημ. OR)	-1,2 ± 0,8 ^α	0,11
F4 (D ₂)	-0,8 ± 1,1 ^α	0,49
F5 (D ₃)	-1,2 ± 1,2 ^α	0,33
F6 (D ₄)	-0,6 ± 1 ^α	0,52
F7 (D ₅)	-1,4 ± 0,9 ^α	0,15

α Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

Πίνακας 12. Σύγκριση εμβρυολογικών και βιοχημικών παραμέτρων μεταξύ STAI-T ♀≤39,31 και STAI-T ♀>39,31

	Διαφορά μέσης τιμής ^α	P Value
AP. ΩΑΡΙΩΝ	-0,2 ± 1	0,78
FR	-7,4 ± 8,6	0,4
CR	-2,2 ± 8,4	0,79
MSET	0,02 ± 0,9	0,98
F1 (προ θεραπείας)	-1,7 ± 0,85	0,05
F2 (8 ^η ημ.θεραπείας)	-1,7 ± 0,7	,02
F3 (ημ. OR)	-2 ± 0,7	,011
F4 (D ₂)	-1,4 ± 1,1	0,22
F5 (D ₃)	-2,2 ± 1,1	0,05
F6 (D ₄)	-2,1 ± 0,9	0,03
F7 (D ₅)	-2,34 ± 0,9	0,01

^α Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα της μέσης τιμής

Στο 2^ο *t-test* μεταξύ θετικών και αρνητικών STAI-T των γυναικών βρέθηκε ότι οι γυναίκες με STAI-T θετικό είχαν μεγαλύτερο αριθμό ωαρίων, υψηλότερο FR και CR, χαμηλότερο MSET, αλλά όχι στατιστικά σημαντικά. Οι τιμές όμως της F ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες στις γυναίκες με STAI-T αρνητικό (εκτός της F4, που ήταν χαμηλότερη αλλά όχι στατιστικά σημαντικά) (πίνακας 12)

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι ερευνητικές μελέτες της σχέσης μεταξύ stress και αποτελέσματος της IVF, έχουν καταλήξει σε αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η παρούσα μελέτη καταλήγει στο ότι δεν υπάρχει σχέση ανάμεσα στην αυτοαξιολόγηση του stress, με STAI S-T Inventory και στο αποτέλεσμα της IVF. Είναι σύμφωνη με τα αποτελέσματα των 2 υπάρχουσών μετα-αναλύσεων (Boivin J., 2011),

(Matthiesen S.M.S., 2011). Τα αποτελέσματα αυτά θα μπορούσαν να αποδοθούν όπως αναφέρουν και οι ίδιοι οι συγγραφείς σε παράγοντες όπως: η έλλειψη ειδικών εργαλείων μέτρησης του stress και/ή η επικέντρωση των αποτελεσμάτων σε μικρό χρονικό διάστημα. Πράγματι όσον αφορά στο τελευταίο, μια μελέτη των Boivin, J. and Schmidt, L. (2005) έχει δείξει ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του stress και του αποτελέσματος της IVF, όταν χρησιμοποιούνται ειδικά ερωτηματολόγια αξιολόγησης άγχους της υπογονιμότητας (Fertility Problem Inventory) και όταν το συνολικό αποτέλεσμα των επαναλαμβανόμενων IVF μετριόταν 12 μήνες αργότερα. (Boivin, J. and Schmidt, L., 2005)

Εκτός από τα παραπάνω, στη μελέτη μας τα επίπεδα του stress score των STAI S-T, μπορεί να είναι υποεκτιμημένα επειδή αυτή η παράμετρος αυτή μετρήθηκε κατά την ημέρα της ET, οπότε η αισιοδοξία αυτής της ημέρας μπορεί να μειώνει το επίπεδο αναγνώρισης του άγχους (Boivin J., 1996). Επιπρόσθετα η αυτοαξιολόγηση του stress μπορεί να επηρεάσθηκε προς την κατεύθυνση του μη-άγχους σε άτομα που προσπαθούν να αποστασιοποιηθούν από τα συναισθήματα τους.

Τα θετικά ποσοστά άγχους σύμφωνα με τα προαναφερθέντα όρια για τον ελληνικό πληθυσμό (Fountoulakis K.N. *et al.*, 2006) ήταν υψηλά και για τις γυναίκες στο (STAI-S 48,9% ,STAI-T 51,1%) και για τους άνδρες (STAI-S 53.3%, STAI-T 48,9%), αποτελέσματα που βρίσκονται σε συμφωνία με τους (Golombok S., 1992), (Chen T.H. *et al.* 2004), (Verhaak C.M. *et al.*, 2007). Γεγονός που επισημαίνει την ανάγκη ψυχολογικής παρέμβασης και στους δύο. Επειδή όμως δεν υπάρχουν αξιόπιστοι προγνωστικοί παράγοντες κινδύνου για το άγχος, η παρέμβαση θα μπορούσε να προσφέρεται σε όσους το ζητούν.

Τα ποσοστά άγχους των ανδρών ήταν λίγο υψηλότερα σε σχέση με τα αναμενόμενα λόγω της μικρότερης εμπλοκής τους στη θεραπεία και της συνήθους υποέκφρασης των συναισθημάτων τους, που όπως φαίνεται οδηγεί σε εσφαλμένα συμπεράσματα. Τα αποτελέσματα των STAI scores των ανδρών είναι αντίθετα με αυτά των Eugster A. and Vingerhoets A.J., 1999, που όμως είναι μια έρευνα 15 χρόνων πριν.

Το stress μετρημένο με κορτιζόλη σάλιου και STAI-I δεν φάνηκε να επηρεάζει αρνητικά την αποτελεσματικότητα της πρόκλησης πολυωοθυλακιορρηξίας (μετρημένη με συνολικό αριθμό ωαρίων και ωαρίων MII). Το αποτέλεσμα μας βρίσκεται σε συμφωνία με τους (Kazem Nouri M.D. et al., 2011).

Η τιμή της (F6), την D4 μετά την OR ήταν χαμηλότερη στις εγκύους ($p < 0.05$) (πίνακας 8), χωρίς να υπάρχουν μελέτες στη βιβλιογραφία για τις ημ +3, +4 και +5 μετά την OR. Θα έπρεπε να γίνουν μεγαλύτερες μελέτες για την αξιολόγηση της σχέσης τους με την επίτευξη κύησης στην IVF.

Οι τιμές της F σάλιου έχουν μεταξύ τους θετική συσχέτιση, πολλές φορές στατιστικά σημαντική, γεγονός που υποδηλώνει ότι όταν ξεκινά η θεραπεία με stress αυτό συνεχίζεται σε όλη τη διάρκεια της προσπάθειας (πίνακας 10)

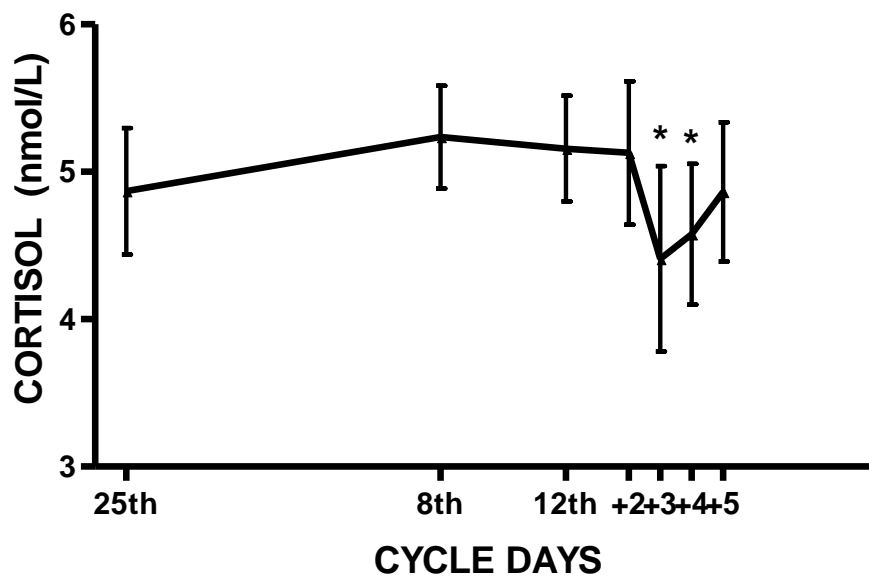
Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ όλων των μετρήσεων κορτιζόλης σάλιου μεταξύ των θετικών και αρνητικών STAI-T (εκτός της F₄ (OR)), με την F να είναι χαμηλότερη στις μη αγχωμένες γυναίκες, γεγονός που αποδεικνύει ότι η F σάλιου μπορεί να είναι ένας αξιόπιστος δείκτης προδιάθεσης άγχους. (πίνακας 12). Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με την ανασκόπηση των (Aguilar Cordero M.J. et al., 2014)

Δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των θετικών και αρνητικών STAI, όσον αφορά στον αριθμό των ωαρίων, στο FR, στο CR, στο MSET και στον αριθμό των εμβρυομεταφερομένων εμβρύων (εκτός από το MSEQ), γεγονός που υποδηλώνει ότι αφού το stress δεν έχει σχέση με τις παραμέτρους της IVF, πιθανώς να υπάρχει εμπλοκή του stress στη διαδικασία εμφύτευσης.

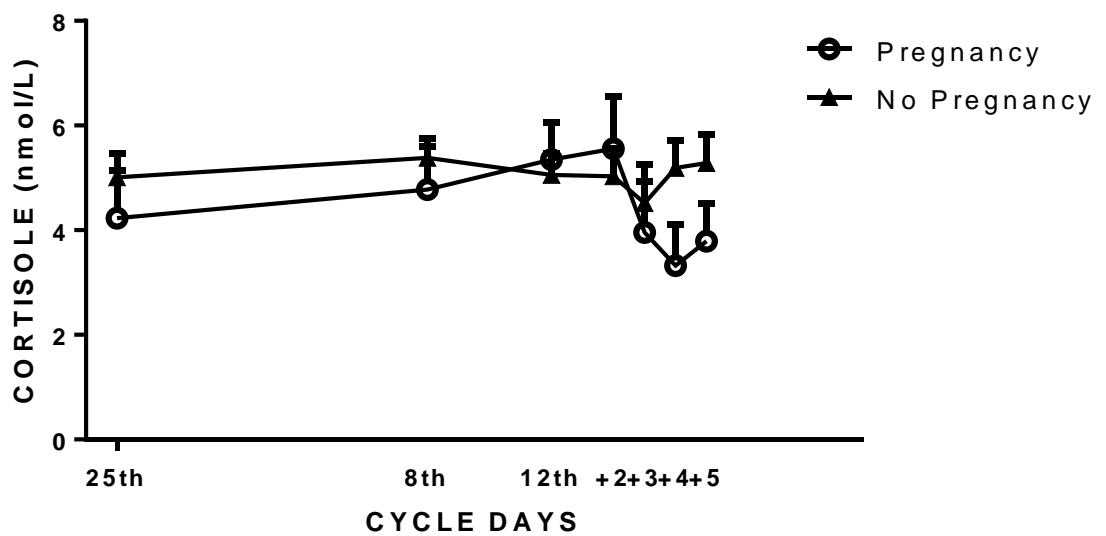
Θα μπορούσε να συνδυαστεί ένα πιο εξειδικευμένο ερωτηματολόγιο άγχους υπογονιμότητας (π.χ. το FPI Fertility Problems Inventory) με μετρήσεις F σάλιου +2,+3,+4,+5 ή και περισσότερες ημέρες μετά την OR, για να σταθμιστεί ακριβέστερα η σχέση άγχους και αποτελέσματος της IVF.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

Διάγραμμα 1. Διακύμανση της κορτιζόλης κατά τη διάρκεια της θεραπείας.



Διάγραμμα 2. Διακύμανση της κορτιζόλης σε έγκυες και μη έγκυες.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aardal, E. and Holm, A. C. (1995) 'Cortisol in saliva reference ranges and relation to cortisol in serum', *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 33(12), pp. 927-32.
- Aguilar Cordero M.J., Sánchez López A.M., Mur Villar N., García I., Rodríguez López M.A., Ortegón Piñero A., Cortés Castell E. (2014)'Salivary cortisol as an indicator of physiological stress in children and adults; a systematic review'.*Nutr Hosp.*, 29(5),pp.960-8
- Alpers, G. W., Abelson, J. L., Wilhelm, F. H. and Roth, W. T. (2003) 'Salivary cortisol response during exposure treatment in driving phobics', *Psychosom Med*, 65(4), pp. 679-87.
- Anderheim L, H. H., Bergh C, Moller A. (2005) 'Does psychological stress affect the outcome of in vitro fertilization? ', *Hum Reprod*, (20), pp. 2969–75.
- Anifandis, G., Dafopoulos, K., Messini, C. I., Chalvatzas, N. and Messinis, I. E. (2010) 'Effect of the position of the polar body during ICSI on fertilization rate and embryo development', *Reprod Sci*, 17(9), pp. 849-53.
- Barzilai-Pesach V, S. E., Sheiner E, Potashnik G, Shoham-Vardi I. (2006) 'The effect of women's occupational psychologic stress on outcome of fertility treatments.', *Environ Med*, (48), pp. 56-62.
- Beaurepaire J., Johnes M., Thiering P., Saunders D., Tennant C.(1994) Psychological adjustment to infertility and its treatment: male and female responses at different stages of IVF/ET treatment. *J Psychosom Res*, 38 pp 229-40.
- Boivin, J. and Schmidt, L. (2005) 'Infertility-related stress in men and women predicts treatment outcome 1 year later', *Fertil Steril*, 83(6), pp. 1745-52.
- Boivin J, T. J. (1995) 'Stress level across stages of in vitro fertilization in subsequently pregnant and nonpregnant women', *Fertil Steril*, (64), pp. 802–10.
- Boivin J., G. E., Venetis A.C. (2011) 'Emotional distress in infertile women and failure of assisted reproductive technologies: meta-analysis of prospective psychosocial studies', *BMJ*.
- Buck Louis, G. M., Schisterman, E. F., Sweeney, A. M., Wilcosky, T. C., Gore-Langton, R. E., Lynch, C. D., Boyd Barr, D., Schrader, S. M., Kim, S., Chen, Z. and Sundaram, R. (2011) 'Designing prospective cohort studies for assessing reproductive and developmental toxicity during sensitive windows of human reproduction and development--the LIFE Study', *Paediatr Perinat Epidemiol*, 25(5), pp. 413-24.
- Burns, L. H. (2007) 'Psychiatric aspects of infertility and infertility treatments',*Psychiatr Clin North Am*, 30(4), pp. 689-716.

- Cattell RBSIH. (1963) Handbook for the IPAT Anxiety Scale. 2nd , Institute for Personality and Ability Testing
- Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. (2005)' Endocrinology of the stress response. Review ', *Annu Rev Physiol.*,(67) pp.259-84.
- Chen T.H., Chang S.P., Tsai C.F., Juang K.D.(2004) 'Prevalence of depressive and anxiety disorders in an assisted reproductive technique clinic'. *Hum Reprod.* (10)pp.2313-8.
- C, K. 'Salivary Cortisol. General Information', Technical Issues
- Clarke RN, K. S., Geoghegan A, Travassos DE. (1999) 'Relationship between psychological stress and semen quality among in-vitro fertilization patients. ', *Hum Reprod* (14), pp. 753-8.
- Clements, A. D. and Parker, C. R. (1998) 'The relationship between salivary cortisol concentrations in frozen versus mailed samples', *Psychoneuroendocrinology*, 23(6), pp. 613-6.
- Cooper BC, G. J., McGettrick AL, Johnson JV. and (2007) 'Perceived infertility-related stress correlates with in vitro fertilization outcome.', *Fertil Steril*, (88), pp. 714-7.
- Covington D. Rickabaugh, B. (2006) 'Caring for the patient with a sponaneous abortion', *J Emerg Nurs*, 32(6), pp. 513-5.
- de Kloet R.E. (1991) 'Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control', *Front Neuroendocrinol*, (12) pp.95–164.
- Demyttenaere K, N. P., Evers-Kiebooms G, Koninckx PR (1992) 'Coping and the ineffectiveness of coping influence the outcome of in vitro fertilization through stress responses', *Psychoneuroendocrinology*, (17), pp. 655-65.
- Deuschle M, S. U., Weber B., Gotthardt U., Körner A., Schmider J., Standhardt H., Lammers C.H., Heuser I. (1997) ' Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls.', *J Clin Endocrinol Metab.*, (82), pp. 234–8.
- Domar A.D., Z. P., Freidman R (1993) 'The psychological impact of infertility:a comparisonwith patients with other medical conditions', *J Psuchosom Obstet Gynaecol*, (no. 14), pp. 45-52.
- Emery, M., Beran, M. D., Darwiche, J., Oppizzi, L., Joris, V., Capel, R., Guex, P. and Germond, M. (2003) 'Results from a prospective, randomized, controlled study evaluating the acceptability and effects of routine pre-IVF counselling', *Hum Reprod*, 18(12), pp. 2647-53.
- Eugster A., Vingerhoets A.J. (1999) Psychological aspects of in vitro fertilization: a review. *Soc Sci Med* (5) pp 575-89.
- Facchinetti F, M. M., Artini GP, Volpe A, (1997) 'An increased vulnerability to stress is associated with a poor outcome of in vitro fertilization-embryo transfer treatment.', *Fertility and Sterility*, 67(2), pp. 309-14.
- Fountoulakis K.N., Papadopoulou M., Kleanthous S., Papadopoulou A., Bizeli V., Nimatoudis .I, Iacovides A., Kaprinis G.S.(2006) Reliability and

- psychometric properties of the Greek translation of the State-Trait Anxiety Inventory form Y: preliminary data. *Ann Gen Psychiatry*, 5:2.
- Freeman E.W., B., Rickel K, Tureck R, Mastroianni L (1985) 'Psychological evaluation and support in a program of in vitro fertilization and embryo transfer.', *Fertil Steril*, (no. 43), pp. 48-53.
- Freeman, E. W., Boxer, A. S., Rickels, K., Tureck, R. and Mastroianni, L., Jr. (1985) 'Psychological evaluation and support in a program of in vitro fertilization and embryo transfer', *Fertil Steril*, 43(1), pp. 48-53.
- Gallinelli A., Matteo M.L., Ciaccio I., and Volpe A., (2001) ' Immunological changes and stress are associated with different implantation rates in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer', *Fertil Steril*, 176, pp. 85-91.
- Golombok S. (1992) 'Psychological functioning in fertility patients', *Hum Reprod*, (7), pp. 208-12.
- Gravanis, A., Makrigiannakis, A., Zoumakis, E. and Margioris, A. N. (2001) 'Endometrial and myometrial corticotropin-releasing hormone (CRH): its regulation and possible roles', *Peptides*, 22(5), pp. 785-93.
- Hämmerli K., Znoj H., Barth J. (2009) The efficacy of psychological interventions for infertile patients: a meta-analysis examining mental health and pregnancy rate. *Hum Reprod Update*. (3)pp 279-95.
- Harlow C.R., Fahy U.M., Talbot W.M., Wardle P.G., Hull M.G. (1996) ' Stress and stress-related hormones during in-vitro fertilization treatment', *Hum Reprod*, (11), pp. 274-9.
- Hillhouse, E. W. and Grammatopoulos, D. K. (2006) 'The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotropin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology', *Endocr Rev*, 27(3), pp. 260-86.
- Jimena, P., Castilla, J. A., Peran, F., Ramirez, J. P., Vergara, F., Jr., Molina, R., Vergara, F. and Herruzo, A. (1992) 'Adrenal hormones in human follicular fluid', *Acta Endocrinol (Copenh)*, 127(5), pp. 403-6.
- Kalantaridou S.N., Zoumakis E, Makrigiannakis A, Lavasidis L.G., Vrekoussis T., Chrousos G.P. (2010) ' Corticotropin-releasing hormone, stress and human reproduction: an update', *Journal of Reproductive Immunology* (85) pp.33–39
- Kirschbaum, C. and Hellhammer, D. H. (1989) 'Salivary cortisol in psychobiological research: an overview', *Neuropsychobiology*, 22(3), pp. 150-69.
- Klonoff-Cohen H., Natarajan L., Sieber W. (2001) ' A prospective study of stress among women undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer.', *Fertil Steril*, (76), pp. 675–87.
- Klonoff-Cohen H., (2004) 'The concerns during assisted reproductive technologies (CART) scale and pregnancy outcomes.', *Fertil Steril*, 81, pp. 982-8.

- Kupka M.S., Ferraretti A.P., de Mouzon J., Erb K., D'Hooghe T., Castilla J.A., Calhaz-Jorge C., De Geyter C., Goossens V., ;The European IVF-monitoring (EIM); Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE); 'The European IVF-monitoring EIM.(2014) Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE'. Hum Reprod. [Epub ahead of print]
- Lewicka S., H. C., Hettinger U., Grunwald K., Vecsei P., Runnebaum B., Rabe T. (2003) 'Cortizol and cortizone in human follicular fluid and serum and the outcome of IVF treatment', Hum Reprod, 18(8), pp. 1613-7.
- Linkowski P., Mendlewicz J., Leclercq R., Brasseur M., Hubain P., Golstein J., Copinschi G., Van Cauter E. (1985),' The 24-hour profile of adrenocorticotropin and cortisol in major depressive illness', J Clin Endocrinol Metab. 61(3) pp.429-38
- Lintsen AM, V. C., Eijkemans MJ, Smeenk JM, Braat DD. (2009) 'Anxiety and depression have no influence on the cancellation and pregnancy rates of a first IVF or ICSI treatment', Hum Reprod., (24), pp. 1092–8.
- LiXH, M. Y., Geng LH, Qin L, Hu H, LiSW. I (2011) ' Base-line psychological stress and ovarian norepinephrine levels negatively affect the outcome of in vitro fertilisation', Gynecol Endocrinol, (27), pp. 139-43.
- Magarelli C.P., M.D., Cridennda K.D., Cohen M. (2009) 'Changes in serum cortisol and prolactin associated with acupuncture during controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization–embryo transfer treatment', Fertil Steril, 92, pp. 1870–9.
- Mahlstedt, P. P., Macduff, S. and Bernstein, J. (1987) 'Emotional factors and the in vitro fertilization and embryo transfer process', J In Vitro Fert Embryo Transf, 4(4), pp. 232-6.
- Makrigiannakis, A., Margioris, A. N., Le Goascogne, C., Zoumakis, E., Nikas, G., Stournaras, C., Psychoyos, A. and Gravanis, A. (1995a) 'Corticotropin-releasing hormone (CRH) is expressed at the implantation sites of early pregnant rat uterus', Life Sci, 57(20), pp. 1869-75.
- Makrigiannakis, A., Zoumakis, E., Kalantaridou, S., Coutifaris, C., Margioris, A. N., Coukos, G., Rice, K. C., Gravanis, A. and Chrousos, G. P. (2001) 'Corticotropin-releasing hormone promotes blastocyst implantation and early maternal tolerance', Nat Immunol, 2(11), pp. 1018-24.
- Makrigiannakis, A., Zoumakis, E., Margioris, A. N., Theodoropoulos, P., Stournaras, C. and Gravanis, A. (1995b) 'The corticotropin-releasing hormone (CRH) in normal and tumoral epithelial cells of human endometrium', J Clin Endocrinol Metab, 80(1), pp. 185-9.
- Mastorakos, G., Webster, E.L., Friedman, T.C., Chrousos, G.P.(1993). Immunoreactive corticotropin-releasing hormone and its binding sites in the rat ovary. J. Clin. Invest. 92, 961–968.

- Mastorakos, G., Scopa, C. D., Kao, L. C., Vryonidou, A., Friedman, T. C., Kattis, D., Phenekos, C., Rabin, D. and Chrousos, G. P. (1996) 'Presence of immunoreactive corticotropin-releasing hormone in human endometrium', *J Clin Endocrinol Metab*, 81(3), pp. 1046-50.
- Matsuda S. , Y. T., Okada K., Gotouda A., Mikami S. (2012) 'Day-to-day variations in salivary cortisol measurements', *Journal of Prosthodontic*
- Merari D, F. D., Elizur A, Goldman J, Modan B. (1992) 'Psychological and hormonal changes in the course of in vitro fertilization', *J Assist Reprod Genet* (9), pp. 161-9.
- Michael, A. E., Pester, L. A., Curtis, P., Shaw, R. W., Edwards, C. R. and Cooke, B. A. (1993) 'Direct inhibition of ovarian steroidogenesis by cortisol and the modulatory role of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase', *Clin Endocrinol (Oxf)*, 38(6), pp. 641-4.
- Milad MP, K. S., Moses S, Chatterton R. (1998) 'Stress and anxiety do not result in pregnancy wastage.', *Hum Reprod*, (13), pp. 2296-300.
- Newton, C. R., Sherrard, W. and Glavac, I. (1999) 'The Fertility Problem Inventory: measuring perceived infertility-related stress', *Fertil Steril*, 72(1), pp. 54-62.
- Olivius C, F. B., Borg G, Bergh C. (2004) 'Why do couples discontinue in vitro fertilization treatment? A cohort study.', *Fertil Steril*, (no. 81), pp. 258-261.
- Omura, T. and Morohashi, K. (1995) 'Gene regulation of steroidogenesis', *J Steroid Biochem Mol Biol*, 53(1-6), pp. 19-25.
- Orr, T. E., Taylor M. F., Bhattacharyya A. K., Collins D. C. and Mann D. R. (1994) 'Acute immobilization stress disrupts testicular steroidogenesis in adult male rats by inhibiting the activities of 17 alpha-hydroxylase and 17,20-lyase without affecting the binding of LH/hCG receptors', *J Androl*, 15(4), pp. 302-8.
- Panagopoulou E, Vedhara K, Gaintarzi C, Tarlatzis B. Panagopoulou E, Vedhara K, Gaintarzi C, Tarlatzis B.(2006) Emotionally expressive coping reduces pregnancy rates in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 86(3),pp 672-7.
- Pratt W.B.(1990) 'Glucocorticoid receptor structure and the initial events in signal transduction', *Prog Clin Biol Res*,(322), pp.119–32.
- Rabin DS, Johnson EO, Brandon DD, Liapi C, Chrousos GP.(1990) (Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: possible role of the uterine estradiol receptor. *Biol Reprod*.,42(1):pp74-80.
- Ragni G, C. A. (1992) ' Negative effect of stress of in vitro fertilization program on quality of semen.', *Acta Eur Fertil* (23), pp. 21-3.
- Rajkhowa M, M. A., Thomas Ge. (2006) 'Reasons for discontinuation of IVF treatment: a questionnaire study', *Hum Reprod*, (no. 21), pp. 358-63.

- Rapoport-Hubschman N., Reicher-Atir R., Sapir O., Fisch B. (2009) "'Letting go" coping is associated with successful IVF treatment outcome', *Fertil Steril*, (92), pp. 1384–8.
- Reid, J. D., Intrieri, R. C., Susman, E. J. and Beard, J. L. (1992) 'The relationship of serum and salivary cortisol in a sample of healthy elderly', *J Gerontol*, 47(3), pp. P176-9.
- Sakakura, M., Takebe, K. and Nakagawa, S. (1975) 'Inhibition of luteinizing hormone secretion induced by synthetic LRH by long-term treatment with glucocorticoids in human subjects', *J Clin Endocrinol Metab*, 40(5), pp. 774-9.
- Sanders KA, B. N. (1999) 'Psychosocial stress and treatment outcome following assisted reproductive technology ', *Hum Reprod* 14, pp. 1656–62
- (SEIHFI. MM. LEVIS S. A new era in reproductive technologies: the emotional stages of in vitro fertilization. J in Vitro Furt, 1987)
- Selye H. A. (1936) 'Syndrome produced by diverse nocuous agents'. *Nature*(138) pp.32–6.
- Sheiner E, S. E., Potashnik G, Carel R, Shoham-Vardi I. (2003) 'The relationship between occupational psychological stress and female fertility', *Occup Med (Lond)*, (53), pp. 265-9.
- Sheiner EK, S. E., Carel R, Potashnik G, Shoham-Vardi I. (2002) ' Potential association between male infertility and occupational psychological stress. ', *J Occup Environ Med*, (44), pp. 1093-9.
- Smeenk JM, V. C., Vingerhoets AJ, Sweep CG, Merkus JM, Willemsen SJ, *et al.* (2005) ' Stress and outcome success in IVF: the role of self-reports and endocrine variables', *Hum Reprod*, 20, pp. 991-6.
- Spielberger C.D. (1966) Theory and research on anxiety. In: Spielberger CD, editor. *Anxiety and behavior*. New York, Academic Press
- Spielberger C.D.(1970) *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Self-Evaluation Questionnaire)*. Palo Alto, CA, Consulting Psychologists press
- Stratakis, C. A., Gold, P. W. and Chrousos, G. P. (1995) 'Neuroendocrinology of stress: implications for growth and development', *Horm Res*, 43(4), pp. 162-7.
- Thia, E. W., Vo Thanh, L. A. and Loh, S. K. (2007) 'Study on psychosocial aspects and support of in vitro fertilisation programme in an Asian population', *Singapore Med J*, 48(1), pp. 61-8.
- Tsigos C., Chrousos G.P. (2002) ' Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress', *.Journal of Psychosomatic Research*, (53), pp. 865–871.

- Vamvakopoulos N.C., Chrousos G.P.(1993),'Evidence of direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression. Potential implications for the sexual dimorphism of the stress response and immune/inflammatory reaction'. *J Clin Invest.* 92(4), pp.1896-902.
- Van den Broek U, Enzlin P, Bakelants E, Demyttenaere K, D'Hooghe T. (2009) 'Reasons for dropout in infertility treatment.', *Gynecol Obstet Invest*, (no. 68), pp. 58-64.
- Van den Broeck U., Emery M., Wischmann T., Thorn P.(2010) 'Counselling in infertility: individual, couple and group interventions' *Patient Educ Couns.* 81(3), pp.422-8
- Verberg MF, E. M., Heijnen EM, Broekmans FJ, de Klerk C, Fauser BC, *et al.* (2008) 'Why do couples drop-out from IVF treatment? A prospective cohort study.', *Hum Reprod*, (no. 23), pp. 2050-5.
- Verhaak, C. M., Smeenk, J. M., Evers, A. W., Kremer, J. A., Kraaijmaat, F. W. and Braat, D. D. (2007) 'Women's emotional adjustment to IVF: a systematic review of 25 years of research', *Hum Reprod Update*, 13(1), pp. 27-36.
- Vining, R. F., McGinley, R. A., Maksvytis, J. J. and Ho, K. Y. (1983) 'Salivary cortisol: a better measure of adrenal cortical function than serum cortisol', *Ann Clin Biochem*, 20 (Pt 6), pp. 329-35.
- von Wolff M., S. S., Kollmann Z., Benedicte Weiss B., Bersinger A.N. (2013) 'Exogenous gonadotropins do not increase the blood-follicular transportation capacity of extra-ovarian hormones such as prolactin and cortisol', *Reproductive Biology and Endocrinology* 2013, 11:87, 11(87).
- Wichman L.C., E. L. S., Wichman E.S., Weaver L.A., Coddington C. (2011) 'Comparison of multiple psychological distress measures between men and women preparing for in vitro fertilization', *Fertil Steril*, (95), pp. 717–21.
- Yazawa, H., Sasagawa, I., Ishigooka, M. and Nakada, T. (1999) 'Effect of immobilization stress on testicular germ cell apoptosis in rats', *Hum Reprod*, 14(7), pp. 1806-10.
- Yding Andersen C. (2002) Possible new mechanism of cortisol action in female reproductive organs: physiological implications of the free hormone hypothesis. *J Endocrinol* 173, pp. 2311-1714.
- Yong, P.Y., Martin, C. and Thong, J. (2000a) 'A comparison of psychological functioning in women at different stages of in vitro fertilization treatment using the mean affect adjective check list', *J Assist Reprod Genet*, 17(10), pp. 553-6.
- Yong, P. Y., Thong, K. J., Andrew, R., Walker, B. R. and Hillier, S. G. (2000b) 'Development-related increase in cortisol biosynthesis by human granulosa cells', *J Clin Endocrinol Metab*, 85(12), pp. 4728-33.